

UNIVERZITA KARLOVA

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Marie Zelená

Syntéza železo-sírných center u anaerobních protist

Iron-sulphur cluster synthesis in anaerobic protists

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Školitel: doc. Mgr. Vladimír Hampl, Ph.D.

Praha, 2018

Poděkování:

Na tomto místě bych ráda poděkovala svému školiteli doc. Mgr. Vladimíru Hamplovi, Ph.D. za jeho odborné vedení a trpělivost v průběhu tvorby této práce. Dále děkuji Mgr. Vojtěchu Vackovi za konzultace a Mgr. Lukáši Novákovi za nedocenitelnou pomoc s finálními úpravami textu.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, dne 10. 5. 2018

Marie Zelená

Abstrakt

Železo-sírná centra jsou malé anorganické kofaktory proteinů přítomné ve všech buňkách. Tyto proteiny se účastní důležitých buněčných procesů, jako je například genová exprese, či dýchací řetězec. *In vivo* syntéza železo-sírných center probíhá prostřednictvím složitých biosyntetických drah, které jsou v eukaryotických buňkách lokalizované v mitochondrii, cytosolu a plastidech. Syntéza v cytosolu je závislá na produktu mitochondriální dráhy. Mitochondrie anaerobních protist ve většině případů podléhají různému stupni reduktivní evoluce, s čímž souvisí i modifikace mitochondriální dráhy pro syntézu železo-sírných center. V mnoha případech tyto organismy získaly laterálním genovým přenosem alternativní biosyntetické dráhy, které fungují jako doplněk k mitochondriální dráze, či ji zcela nahrazují. Nahrazení mitochondriální dráhy dráhou alternativní bylo nejspíše klíčovou událostí, která umožnila sekundární ztrátu mitochondrie.

Klíčová slova: Železo-sírná centra, anaerobní protista, ISC, CIA, SUF, mitochondrie

Abstract

Iron-sulphur clusters are small ubiquitous cofactors of proteins present in all cells. These proteins participate in many important processes such as gene expression or respiratory chain. *In vivo* synthesis of iron-sulphur clusters requires complex biosynthetic pathways. In eukaryotic cells these pathways are localized inside mitochondria and plastids and in the cytosol. Cytosolic synthesis depends on a product of the mitochondrial pathway. Mitochondria of anaerobic protists in most cases went through reductive evolution, which is associated with the reduction of mitochondrial iron-sulphur cluster biosynthetic pathway. In many cases, these organisms acquired alternative pathways via lateral gene transfer, which act either as a complement to the mitochondrial pathway, or as its complete functional substitution. Replacement of the mitochondrial pathway might have been a key event for secondary loss of mitochondria.

Key words: Iron-sulphur clusters, anaerobic protists, ISC, CIA, SUF, mitochondrion

Seznam použitých zkratek

ABC	ATP-binding cassette
ADP	adenosin difosfát
ATP	adenosin trifosfát
CIA	cytosolic iron-sulphur cluster assembly
FADH ₂	flavinadenindinukleotid
FDX	ferredoxin
FXN	frataxin
GCS	glycine cleavage system
Grx5	glutaredoxin 5
ISC	iron-sulphur cluster assembly
MLO	mitochondrion-like organelle
MRO	mitochondrion-related organelle
NAD(P)H	nikotinamidadenindinukleotidfosfát
NIF	nitrogen fixation
PLP	pyridoxal fosfát
SUF	sulphur utilization factors

Obsah

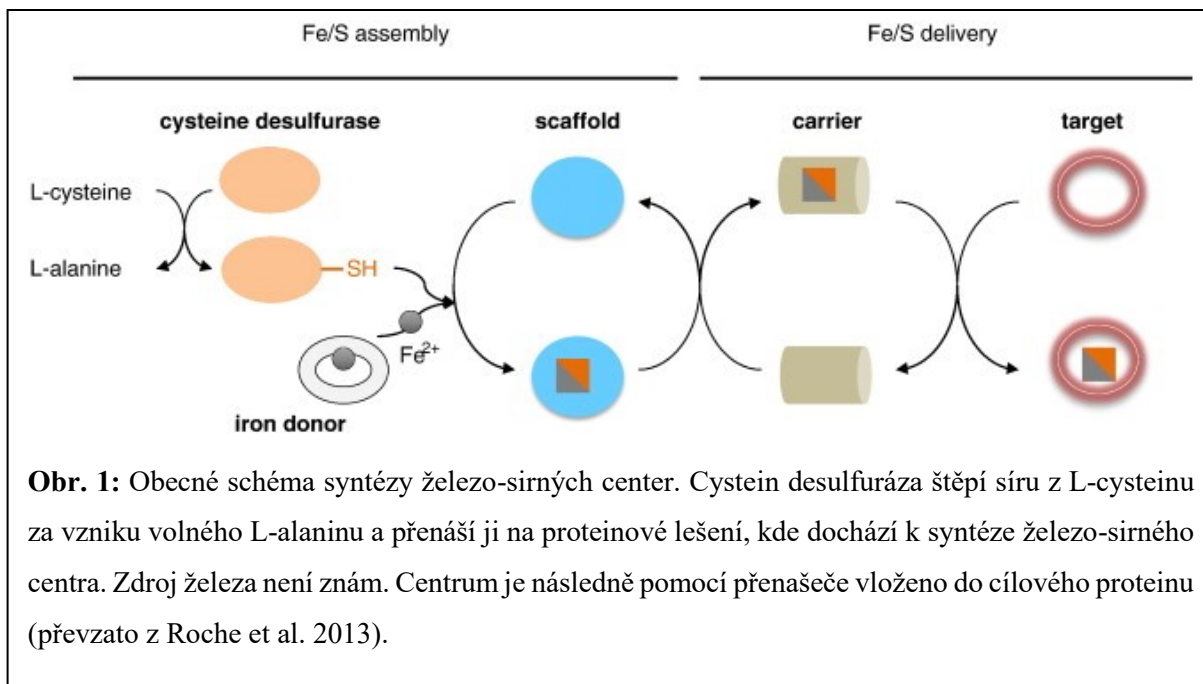
1	Úvod	- 1 -
2	Struktura a vlastnosti železo-sirných center	- 2 -
3	Syntéza železo-sirných center u modelových organismů	- 3 -
3.1	<i>Escherichia coli</i>	- 3 -
3.1.1	ISC	- 4 -
3.1.2	SUF	- 4 -
3.1.3	CSD.....	- 6 -
3.2	<i>Azotobacter vinelandii</i>	- 6 -
3.2.1	NIF	- 6 -
3.3	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	- 7 -
3.3.1	ISC	- 7 -
3.3.1.1	CIA.....	- 9 -
3.4	Člověk.....	- 10 -
4	Syntéza železo-sirných center u anaerobních protist	- 11 -
4.1	Metamonada	- 11 -
4.1.1	<i>Giardia intestinalis</i>	- 11 -
4.1.2	<i>Spironucleus salmonicida</i>	- 13 -
4.1.3	<i>Spironucleus vortens</i>	- 13 -
4.1.4	<i>Kipferlia bialata</i>	- 13 -
4.1.5	<i>Trichomonas vaginalis</i>	- 13 -
4.1.6	<i>Monocercomonoides</i> sp.	- 14 -
4.1.7	<i>Paratrimastix pyriformis</i>	- 15 -
4.2	Microsporidia.....	- 16 -
4.3	Stramenopiles	- 17 -
4.3.1	<i>Blastocystis</i>	- 17 -
4.4	Jakobida	- 17 -

4.4.1	<i>Stygiella incarcerata</i>	- 17 -
4.5	Breviatea.....	- 18 -
4.5.1	<i>Pygsuia biforma</i>	- 18 -
4.6	Amoebozoa (Archamoebae).....	- 19 -
4.6.1	<i>Entamoeba histolytica</i>	- 19 -
4.6.2	<i>Mastigamoeba balamuthi</i>	- 20 -
4.7	Rhizaria.....	- 20 -
4.7.1	<i>Mikrocytos mackini</i>	- 20 -
4.7.2	<i>Brevimastigomonas motovehiculus</i>	- 20 -
4.8	Ciliata.....	- 21 -
4.8.1	<i>Nyctotherus ovalis</i>	- 21 -
5	Závěr	- 21 -
6	Seznam použité literatury	- 23 -

1 Úvod

Anaerobní protista jsou organismy žijící v prostředí s úplnou absencí kyslíku, či jeho nízkou koncentrací. Jednou z nejvýznamnějších adaptací těchto organismů je výrazná redukce jejich mitochondrií vedoucí v některých případech až k jejich úplné absenci, jako je tomu u druhu *Monocercomonoides* sp. (Karnkowska et al. 2016). Takto redukované mitochondrie se v literatuře označují jako MROs (mitochondrion-related organelles), či MLOs (mitochondrion-like organelles). Tyto organely mezi sebou tvoří jakési kontinuum. Kromě klasické dobře známé aerobní mitochondrie rozlišujeme anaerobní mitochondrie a vodík produkující mitochondrie se zachovaným genomem. Genomu se v průběhu evoluce zbavily hydrogenosomy a mitosomy (Roger, Muñoz-Gómez, & Kamikawa 2017). Mitochondrie a jim příbuzné organely zajišťují v buňce mnoho biochemických funkcí, jediná prokazatelná funkce společná pro všechny tyto organely, s výjimkou *E. histolytica* (Mi-ichi et al. 2009), je však přítomnost některé z drah pro syntézu malých esenciálních kofaktorů, železo-sírných center (Tachezy & Šmíd 2007; Jedelský et al. 2011). Právě touto minimální funkcí mitochondriální organely se bude tato práce zabývat.

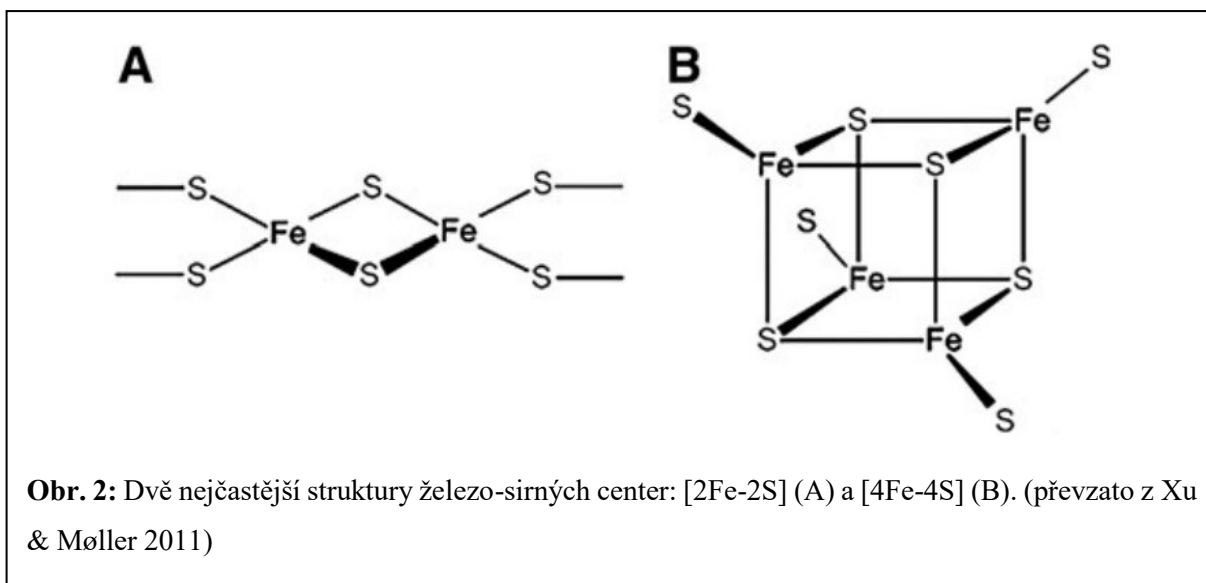
Železo-sírná centra (též FeS klastry, či [Fe-S]) jsou malé anorganické kofaktory hojně přítomné ve všech buňkách. Jsou součástí mnoha různých proteinů (zhruba 150 u *E. coli* a 70 u člověka (Estellon et al. 2014; Andreini, Banci, & Rosato 2016)) kde fungují např. jako přenašeče elektronů. Železo-sírné proteiny se účastní mnoha stěžejních buněčných dějů, jako je například buněčné dýchání (komplexy dýchacího řetězce), Krebsův cyklus (akontitáza), regulace genové exprese či modifikace tRNA (IscS, IscU) (Shi et al. 2010; shrnuto v Ali & Nozaki 2013). Železo-sírná centra se in vitro tvoří spontánně bez větších problémů z anorganického železa a síry (Malkin & Rabinowitz 1966), pro jejich vznik in vivo je však zapotřebí složitých biosyntetických drah, které jsou v eukaryotických buňkách lokalizované v mitochondrii, cytosolu a plastidech. Pro všechny tyto dráhy platí obecné schéma (Obr. 1), každá biosyntetická dráha pro vznik železo-sírných center začíná cystein desulfurázou, která odebírá síru z molekuly L-cysteinu za vzniku L-alaninu. Donorem železa je dosud neznámá molekula. Centrum se tvoří z železa a síry na proteinovém lešení („scaffoldu“), je přeneseno na přenašeč a následně vloženo do cílového polypeptidu (apoproteinu). Cytosolická dráha CIA pro syntézu center získává síru z dráhy ISC v podobě sloučeniny s neznámou strukturou (X-S) (Roche et al. 2013; Xu & Møller 2011).



2 Struktura a vlastnosti železo-sírných center

Železo-sírná centra jsou v proteinu nejčastěji koordinována -SH skupinou cysteinu, jako ligand však může fungovat též histidin, arginin, serin, či kyselina asparagová. Dvěma nejčastějšími typy center jsou $[2\text{Fe}-2\text{S}]$ a $[4\text{Fe}-4\text{S}]$ (Obr. 2). Vyskytují se však také v jiných formách jako je $[3\text{Fe}-4\text{S}]$ v bakteriálním ferredoxinu I, nebo $[8\text{Fe}-7\text{S}]$ v P centru MoFe proteinu nitrogenázy. $[4\text{Fe}-4\text{S}]$ centra mohou být syntetizována ze dvou $[2\text{Fe}-2\text{S}]$ center, složitější centra pak fúzí $[4\text{Fe}-4\text{S}]$. Železo je v centru přítomno ve Fe^{2+} , nebo Fe^{3+} formě, síra pak ve formě S^{2-} aniontu. (Xu & Möller 2011; Roche et al. 2013; Ali & Nozaki 2013).

Železo-sírná centra plní v proteinu různé úlohy v závislosti na funkci proteinu. Nejvýznamnější je jejich úloha při redoxní katalýze (mají vysoké rozpětí redoxních potenciálů), účastní se však i neredoxních reakcí (např. v akonitáze slouží jako Lewisova kyselina) (Ali & Nozaki 2013). Ionty železa v železo-sírných centrech mají schopnost přecházet mezi oxidovanou (Fe^{3+}) a redukovanou (Fe^{2+}) formou, díky čemuž jsou skvělými přenašeči elektronů. Fe-S centra jsou proto součástí proteinů v dýchacím řetězci a fotosyntéze (Goldbeck 1987, cit. dle Nitschke & Rutherford 1991). Železo-sírná centra snadno podléhají oxidativnímu stresu. Oxidované železo způsobuje Fentonovu reakci, při které vznikají vysoce toxické reaktivní kyslíkové částice (ROS) (Py & Barras 2010).



3 Syntéza železo-sírných center u modelových organismů

V následující kapitole se pokusím přiblížit způsob syntézy železo-sírných center u modelových organismů. U prokaryot byly popsány dráhy iron-sulphur cluster (dále jen ISC), sulphur utilization factors (dále jen SUF) a nitrogen fixation (dále jen NIF). Syntéza železo-sírných center u typické eukaryotické buňky začíná v mitochondrii dráhou ISC (eukaryota tuto dráhu pravděpodobně zdělila od prokaryotického předka mitochondriální organely (Sagan 1967)), na kterou navazuje cytosolická dráha cytosolic iron-sulphur cluster assembly (dále jen CIA), která zprostředkovává maturaci cytosolických a jaderných [Fe-S] proteinů. V plastidech eukaryotických buněk je přítomna dráha SUF. Mezi prokaryotické organismy, u kterých byla dobře popsána syntéza železo-sírných center, patří *Escherichia coli* (využívá dráhy ISC a SUF) a *Azotobacter vinelandii* (kromě dráhy ISC zde byla popsána dráha NIF). Eukaryotické modelové organismy představuje kvasinka *Saccharomyces cerevisiae* a člověk (v obou těchto případech probíhá syntéza pomocí drah ISC a CIA) (Xu and Møller 2011).

3.1 *Escherichia coli*

V buňce *E. coli* jsou zachované dvě biosyntetické dráhy pro syntézu železo-sírných center, ISC a SUF (Obr. 3). Tyto dráhy se mohou vzájemně nahrazovat. SUF je využívána zejména v podmínkách nedostatku železa a při oxidativním stresu (Roche et al. 2013).

3.1.1 ISC

Prvním krokem ISC dráhy je získání síry z L-cysteinu pomocí cystein desulfurázy. K tomuto účelu je využívána cystein desulfuráza IscS, která získává z L-cysteinu síru ve formě persulfidu (-SSH) za vzniku volného L-alaninu. IscS je enzym, jehož funkce závisí na kofatoru PLP (pyridoxal-5'-fosfát) (Schwartz et al. 2000). Persulfid se přechodně váže na cysteinové aktivní místo (Cys328) na IscS a následně je přenesen na protein IscU (Urbina et al. 2001). IscU je enzym, který funguje jako tzv. proteinové lešení a tvoří komplex s IscS, který se v buňce nachází ve formě dimeru (dvě molekuly IscU interagují s jedním dimerem IscS) (Shi et al. 2010). IscU se vyskytuje ve dvou konformacích, „disordered“ (D) a „structured“ (S), přičemž s IscS interaguje v D stavu a při syntéze železo-sírného centra se mění do stavu S (Kim et al. 2009). Syntézy [2Fe-2S] centra na lešení IscU se také účastní protein CyaY, bakteriální homolog frataxinu. Tento protein na sebe váže železo a interaguje *in vitro* s cystein desulfurázou IscS (Adinolfi et al. 2009), jeho přesná role v syntéze železo-sírných center není zcela známá (shrnutí v Roche et al. 2013). Na lešení IscU nejspíše probíhá také syntéza [4Fe-4S] center spojením dvou [2Fe-2S] center za jejich redukce ferredoxinem (Fdx). (Chandramouli et al. 2007).

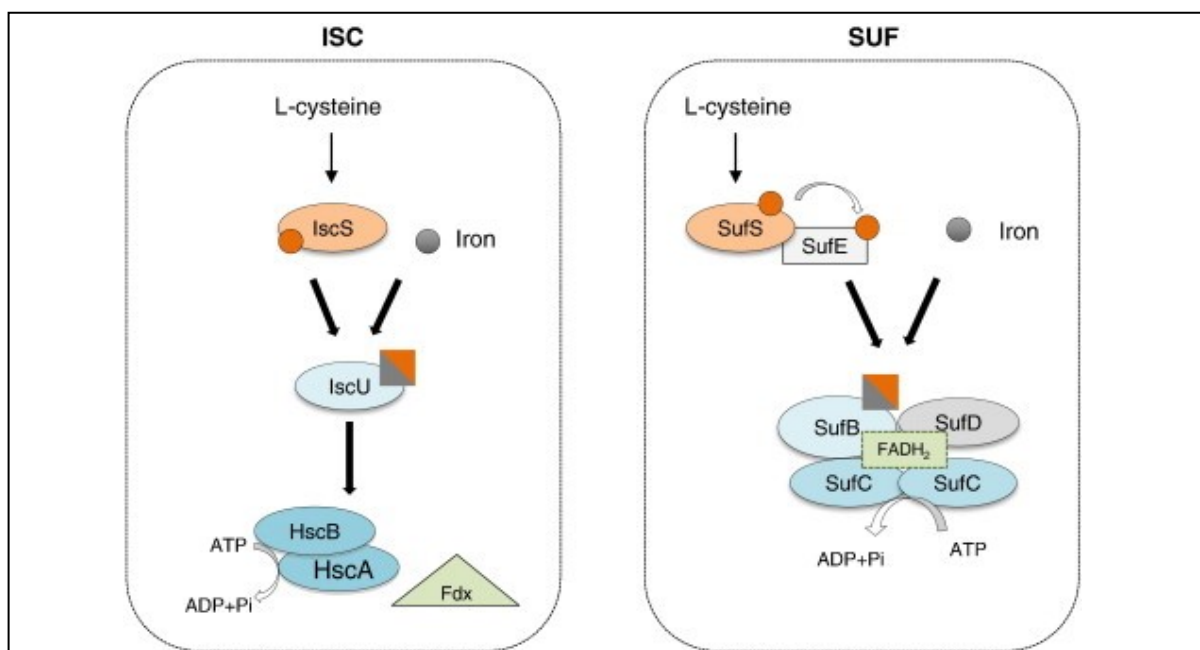
Uvolnění centra z komplexu IscU-IscS zprostředkovává chaperon HscA (chaperon typu DnaK) (Hoff, Silberg & Vickery 2000), který rozpoznává specifickou LPPVK sekvenci na IscU a váže se na ni (Kevin G. Hoff, Cupp-Vickery, & Vickery 2003). Aktivita HscA je řízena co-chaperonem HscB (co-chaperon typu DnaJ) a probíhá za hydrolýzy ATP (Silberg et al. 2004). *E. coli* obsahuje tři tzv. proteiny typu A („A-type proteiny“), IscA, SufA a ErpA (Loiseau et al. 2007). Dříve byly tyto proteiny považovány za alternativní lešení (Ollagnier-de-Choudens et al. 2001), či donory železa (Ding, Harrison, and Lu 2005), ani jedna z těchto teorií však nebyla u *E. coli* uspokojivě prokázána. Podle nejpřijímanější hypotézy fungují proteiny typu A jako přenašeče železo-sírných center mezi proteinovým lešením a apoproteinem. V případě ISC je centrum přeneseno z IscU na IscA a následně na ErpA, který jej přeneše na konečný apoprotein (Loiseau et al. 2007; Ollagnier-de-Choudens et al. 2001; shrnutí v Roche et al. 2013).

3.1.2 SUF

SUF systém se skládá ze dvou subkomplexů SufBCD a SufSE (Wollers et al. 2010; Takahashi and Tokumoto 2002). Cystein desulfuráza SufS získává síru z L-cysteinu obdobným způsobem jako její homolog IscS. SufS funguje v heterodimeru se SufE, který je strukturně

podobný IscU a zvyšuje aktivitu SufS. V některých organismech, jako jsou například *B. subtilis* a *Monocercomonoides sp.* je SufS v komplexu s proteinem SufU, což je homolog IscU a zastává zde zřejmě stejnou funkci jako protein SufE (Albrecht et al. 2010; Karnkowska et al. 2016). Persulfid derivovaný z L-cysteinu se váže na aktivní cysteinové místo (Cys364) na SufS, následně je přenesen na Cys51 na SufE. SufE zprostředkovává přenos na SufB, který je součástí SufBCD komplexu (Layer et al. 2007; Outten et al. 2003).

SufB má vlastnosti proteinového lešení a probíhá na něm kompletace železo-sírného centra (Wollers et al. 2010). SufD je paralog SufB a podle jedné z hypotéz jeho funkce spočívá ve zprostředkování vstupu železa do komplexu. Syntéza probíhá za hydrolýzy ATP na SufC (Saini et al. 2010). SufBCD komplex může existovat v různých formách, za výchozí se považuje forma SufBC₂D (1:2:1 SufB:SufC:SufD). SufBCD komplex váže jednu molekulu FADH₂, zřejmě jako zdroj elektronů, i v tomto případě však není přesný význam znám (Wollers et al. 2010). Stejně jako v ISC systému zprostředkovávají přesun centra z lešení do apoproteinu proteiny typu A. Železo-sírné centrum je přeneseno ze SufB na SufA a odsud na ErpA, který zprostředkovává jeho vložení do apoproteinu (Loiseau et al. 2007; Vinella et al. 2009).



Obr. 3: Schéma syntézy železo-sírných center v buňce *E. coli*. Syntéza centra probíhá na lešení, kterým je v ISC dráze protein IscU. V SUF dráze je tímto komponentem protein SufB, který je zde vyobrazen v komplexu SufBC₂D. Cystein desulfurázy jsou IscS a komplex SufSE (převzato z Roche et al. 2013).

3.1.3 CSD

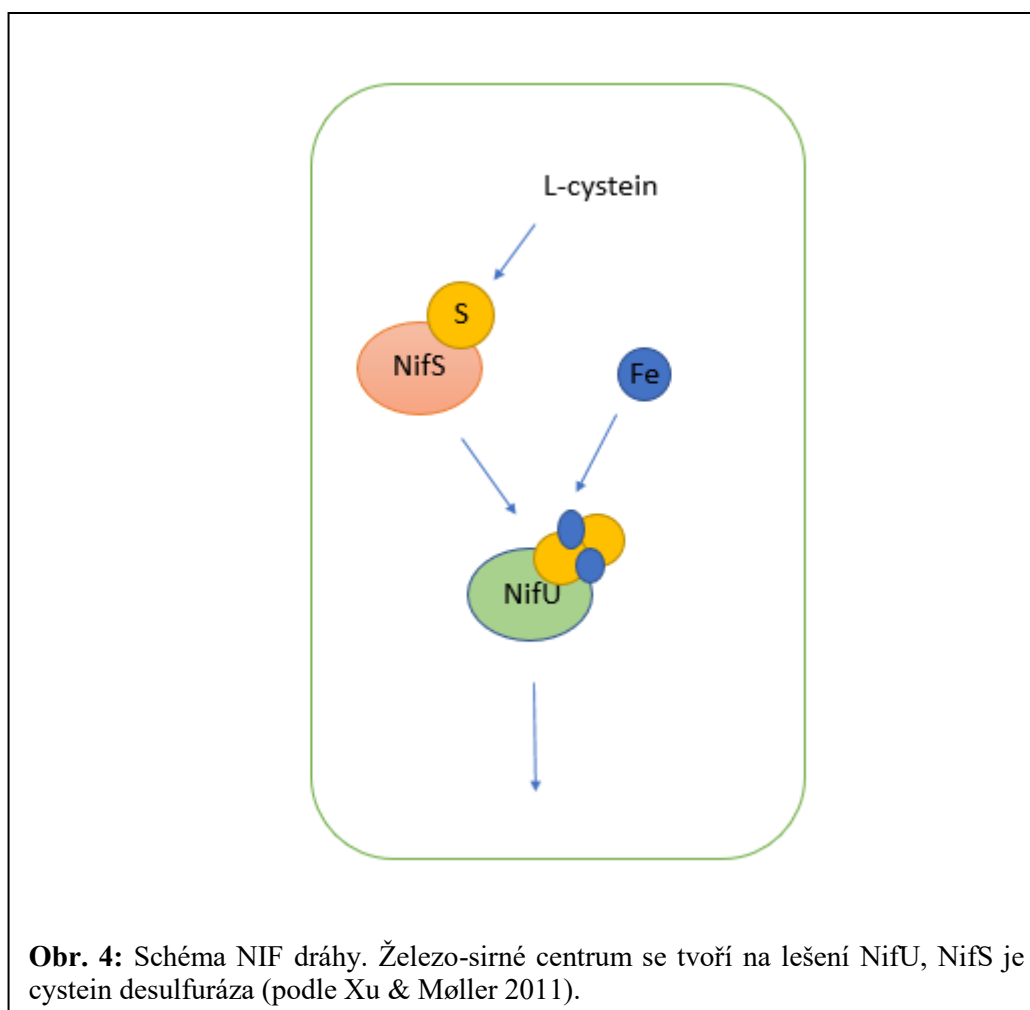
Kromě SufSE obsahuje *E. coli* ještě jednu podobnou cystein desulfurázu, CsdAE. CsdAE může interagovat se SufBCD a tvořit hybridní CsdAE-SufBCD-systém. Je však potřeba dalšího výzkumu k objasnění za jakých podmínek tento systém funguje (Loiseau et al. 2005; Trotter et al. 2009).

3.2 *Azotobacter vinelandii*

Azotobacter vinelandii je bakterie schopná fixovat dusík. U tohoto organismu byla popsána dráha NIF, kterou *A. vinelandii* využívá jako doplněk k dráze ISC (popsána v předchozí kapitole u *E. coli*) Zatímco systémy ISC a SUF se mohou u *E. coli* vzájemně nahrazovat (*E. coli* je bez ISC životaschopná, je-li přítomen SUF a naopak), *A. vinelandii* je životaschopná pouze s funkčním ISC (NIF funguje v buňce *A. vinelandii* nejspíše pouze k maturaci nitrogenázy) (shrnutí v Roche et al. 2013).

3.2.1 NIF

NIF dráha (Obr. 4) se kromě dusík fixujících bakterií nachází i u některých organismů, které dusík nefixují, jako je například *Helicobacter pylori* a *Entamoeba histolytica* (Olson et al. 2000; Ali et al. 2004). NIF byl vůbec prvním popsaným biosyntetickým systémem pro syntézu železo-sirných center (Jacobson et al. 1989), a ze všech doposud popsaných systémů se jedná o nejjednodušší (nepočítáme-li CsdAE u *E. coli*). NIF sestává z cystein desulfurázy NifS, která je homologem IscS a SufS. Na NifS se váže L-cystein a za uvolnění L-alaninu dochází ke vzniku navázaného persulfidu, který je následně přenesen na proteinové lešení (Zheng et al. 1993). Proteinovým lešením NIF dráhy je NifU, protein homologní k IscU a SufU, který funguje ve formě homodimeru. NifU vytváří přechodně vázané [2Fe-2S] centrum, k jehož syntéze dochází nejspíše na N-, či C-terminální doméně proteinu (Yuvaniyama et al. 2000). NifS a NifU spolu tvoří přechodný komplex, což usnadňuje přenos persulfidu. NIF dráha obsahuje také protein typu A, IscA^{Nif}. Podobně jako IscA a SufA, funguje tento protein nejspíše jako přenašeč centra do apoproteinu (Xu & Møller 2011).



3.3 *Saccharomyces cerevisiae*

Kvasinka *Saccharomyces cerevisiae* je jednobuněčný organismus, který se v molekulární biologii používá jako modelový organismus pro studium eukaryotických buněk. Syntéza železo-sírných center v kvasince začíná v mitochondrii systémem iron-sulphur cluster (ISC) (Obr. 5), na který navazuje cytosolic iron-sulphur cluster assembly (CIA) v cytosolu buňky (Braymer and Lill 2017).

3.3.1 ISC

ISC dráha je u eukaryot komplexnější než u prokaryot, dělí se zde na brzkou ISC („early ISC machinery“) s komponenty homologními prokaryotické verzi ISC dráhy, která vytváří [2Fe-2S] centra, a pozdní ISC („late ISC machinery“), která skládá [4Fe-4S] centra (shrnutí v Braymer & Lill 2017). Výkonnost dráhy ISC podává informace o dostupnosti železa v buňce a hraje důležitou roli v udržování jeho homeostázy (Kispal et al. 1997).

Prvním krokem v dráze ISC je získání síry pro skládání center pomocí cystein desulfurázy Nfs1 (homolog IscS), která je u kvasinky v komplexu s proteiny Isd11 a Acp1 (Nfs1-Isd11-Acp1) (Van Vranken et al. 2016; Mühlenhoff et al. 2003). Komplex Nfs1-Isd11-Acp1 získává síru z cysteinu za vzniku volného alaninu a persulfidu (-SSH), který je navázán na aktivní cysteinový zbytek Nfs1 (desulfurace), a následně přenesen na jeden ze tří konzervovaných cysteinových zbytků proteinového lešení Isu1 (trans-sulfurace). Funkce proteinu Isd11 není v tomto kroku zcela jasná, zřejmě se jedná o evoluční novinku u eukaryot. V prokaryotické ISC dráze nebyl homolog tohoto proteinu zaznamenán (Richards & van der Giezen 2006a).

K syntéze [2Fe-2S] centra dochází na proteinovém lešení, které je u *S. cerevisiae* tvořeno komplexem Isu1-Isu2. Isu1 a Isu2 jsou homology IscU (Mühlenhoff et al. 2003; Lill et al. 2015). Syntéza centra na lešení je spojena s elektron transportním řetězcem sestávajícím z ferredoxin reduktázy Arh1 (homolog FDXR u člověka) a [2Fe-2S] ferredoxinu Yah1 (lidský FDX2) (Lange et al. 2000; Sheftel et al. 2010; Y. Shi et al. 2012). První pokusy o *in vitro* syntézu železo-sírných center na Isu1-Isu2 byly prováděny za přítomnosti redukčního činidla dithiothreitolu (DTT), který dokázal funkci elektron transportního řetězce nahradit, a proto byl význam těchto proteinů dlouho přehlížen (Yan, Adinolfi, and Pastore 2015). Ferredoxinový elektron transportní řetězec nejspíše redukuje síru z oxidačního stavu S^0 (přítomna v persulfidu) na oxidační stav S^{2-} . V tomto stavu se síra vyskytuje v železo-sírných centrech. Redukce probíhá za oxidace NAD(P)H (shrnutí v Braymer & Lill 2017).

Součástí brzké ISC je také protein Yfh1 (yeast frataxin homolog). Homology frataxinu se až na výjimky účastní syntézy železo-sírných center napříč všemi organismy a jejich funkce není zcela známá (shrnutí v Stemmler et al. 2010). Defekty funkce či syntézy lidského homologu frataxinu vedou k neurodegenerativnímu onemocnění Friedrichova ataxie. Frataxin podporuje syntézu centra na Isu1-Isu2, autoři se však zcela neshodují, kterých reakcí se přesně účastní. Některé články uvádí, že frataxin interaguje s cystein desulfurázou Nfs1 a pomáhá štěpení síry z L-cysteinu (Pandey et al. 2013; Bridwell-Rabb et al. 2014). Jiní autoři zmiňují jeho účast při přenosu síry z cystein desulfurázy Nfs1 na proteinové lešení (Parent et al. 2015). Frataxin dokáže vázat atomy železa, jedna z dalších hypotéz tedy označuje frataxin jako zdroj železa pro syntézu železo-sírného centra na lešení Isu1-Isu2 (Pastore et al. 2007; Stemmler et al. 2010).

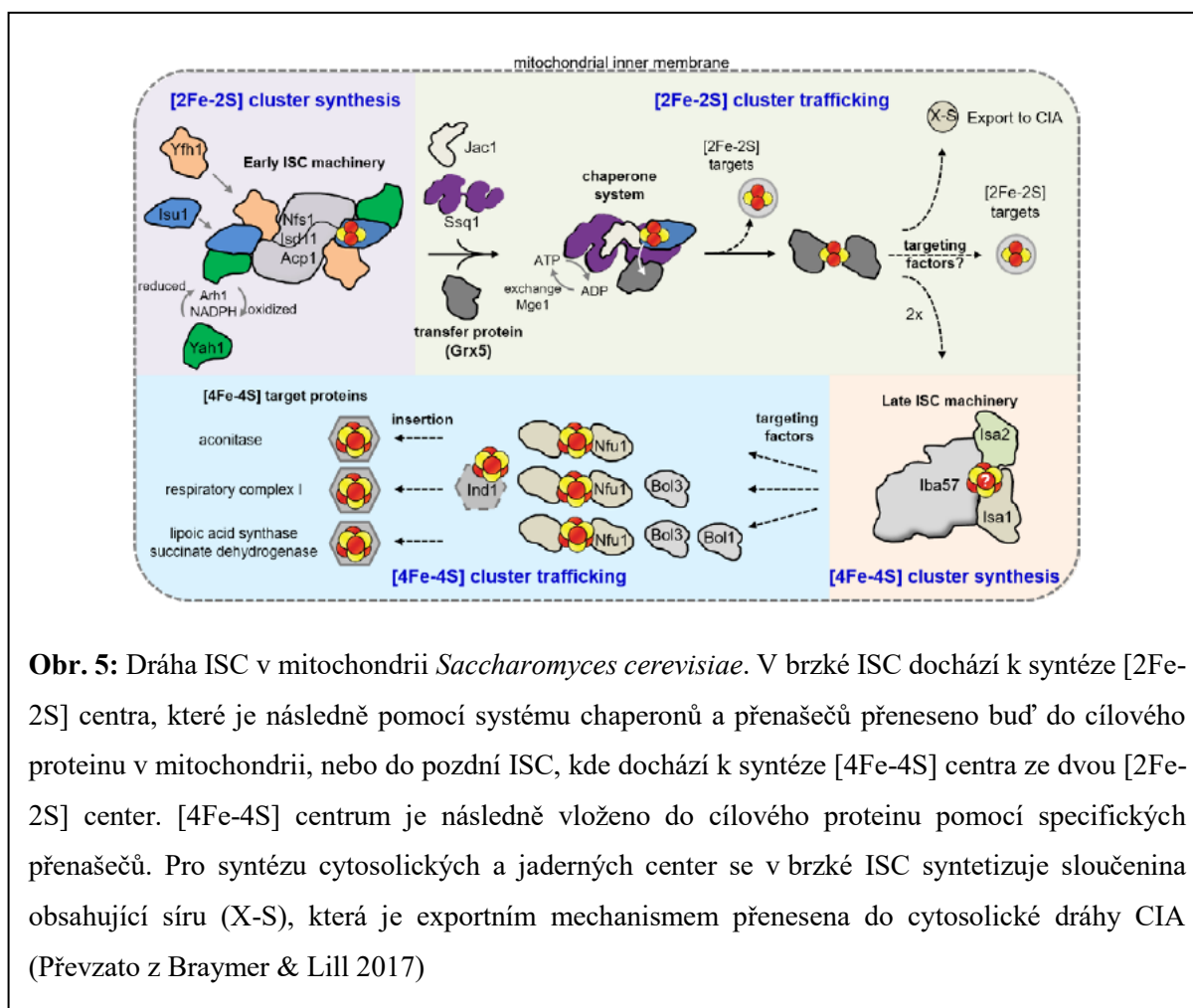
Po syntéze [Fe-S] centra na lešení následuje jeho přenos do apoproteinu. V ISC dráze *Saccharomyces cerevisiae* je tento krok zprostředkován proteiny Ssq1, Jac1, Mge1 a monothiol glutaredoxinem Grx5. Fe-S centrum je z Isu1-Isu2 uvolněno interakcí s chaperonem Ssq1

(chaperon typu Hsp 70, homolog HscA v bakteriální ISC). Ssq1 interaguje s LPPVK vazebnou doménou Isu1 a pro svou funkci vyžaduje ATP. Chaperonu Ssq1 asistují dva co-chaperony, Jac1 (DnaJ-like co-chaperon, homolog bakteriálního HscB), který stimuluje ATPázovou funkci Ssq1, a „nucleotide exchange factor“ Mge1, který nahrazuje ADP na Ssq1 za ATP čímž obnovuje jeho funkci. Následně je centrum přeneseno na přenašeč monothiol glutaredoxin 5 (Grx5), ze kterého je centrum přeneseno do apoproteinů v mitochondrii, které vyžadují [2Fe-2S] centra (shrnutí v Braymer and Lill 2017).

[2Fe-2S] centra jsou do apoproteinů vložena z Grx5. Pro [4Fe-4S] proteiny je nejprve třeba [4Fe-4S] centrum vytvořit složením ze dvou [2Fe-2S] center. K tomuto účelu slouží komponenty pozdní ISC. Stejně jako je tomu u prokaryotického systému, obsahuje i eukaryotická ISC dráha proteiny typu A. Tyto proteiny tvoří komplex Isa1-Isa2-Iba57 (Mühlenhoff et al. 2011). Isa1 a Isa2 přijímají centrum od Grx5 (Kim et al. 2010). Následně dochází ke spřažení dvou [2Fe-2S] center a formaci [4Fe-4S]²⁺ (Brancaccio et al. 2014). Posledním krokem ISC je vložení [4Fe-4S] centra do apoproteinu. K tomuto účelu jsou v mitochondrii specifické přenašeče. Protein Nfu se nejspíše účastní přenosu [4Fe-4S] centra do většiny apoproteinů, dalšími přenašeči jsou například Ind1 (protein specifický pro inzerci center do komplexu I dýchacího řetězce) a Bol proteiny (shrnutí v Braymer & Lill 2017).

1.1.1 CIA

Ke kompletaci cytosolických a jaderných proteinů využívá buňka dráhu CIA v cytosolu. Tato dráha byla poprvé popsána právě u kvasinky (Roy et al. 2003). CIA dráha neobsahuje cystein desulfurázu, pro syntézu Fe-S center využívá síru v podobě neznámé sloučeniny („faktoru X“, X-S), která je syntetizována mitochondriální dráhou ISC. Přenos této sloučeniny je zprostředkováván ABC („ATP binding cassette“) přenašečem Atm1 (lidský ABCB7) na vnitřní mitochondriální membráně (Pondarré et al. 2006; G Kispal et al. 1999). Stejně jako v ISC probíhá samotná syntéza centra v dráze CIA na proteinovém lešení. V kvasince je k tomuto účelu komplex dvou NTPáz Cfd1 a Nbp35. Podobně jako v ISC je k syntéze centra na lešení vyžadován elektron transportní řetězec sestávající z diflavin reduktázy Tah18 a [Fe-S] proteinu Dre2. Tento řetězec je nejspíše určen k redukci faktoru X, tuto hypotézu však není možné potvrdit bez znalosti struktury této sloučeniny. Vzniklé [4Fe-4S] centrum je následně přeneseno do apoproteinu pomocí přenašeče Nar1 a CIA targeting komplexu Cia1-Cia2-Mms19. Byly identifikovány také některé specifické přenašeče, jako jsou například Lto1 a Yae1 specifické pro protein Rli1 (Paul et al. 2015; shrnutí v Lill et al. 2015).



Obr. 5: Dráha ISC v mitochondrii *Saccharomyces cerevisiae*. V brzké ISC dochází k syntéze [2Fe-2S] centra, které je následně pomocí systému chaperonů a přenašečů přeneseno buď do cílového proteinu v mitochondrii, nebo do pozdní ISC, kde dochází k syntéze [4Fe-4S] centra ze dvou [2Fe-2S] center. [4Fe-4S] centrum je následně vloženo do cílového proteinu pomocí specifických přenašečů. Pro syntézu cytosolických a jaderných center se v brzké ISC syntetizuje sloučenina obsahující síru (X-S), která je exportním mechanismem přenesena do cytosolické dráhy CIA (Převzato z Braymer & Lill 2017)

3.4 Člověk

Kvasinkový model syntézy [Fe-S] center je ve velmi podobné formě využíván u většiny vyšších eukaryot včetně člověka. Dráhy vzniku železo-sírných center byly podrobně zkoumány na savčím myším modelu a v HeLa buňkách. Studium syntézy lidských [Fe-S] center je významné z hlediska patologie. Vzhledem k tomu, že se železo-sírné proteiny účastní mnoha životně důležitých funkcí, je s poruchou jejich syntézy spojeno množství chorob. Nejznámější a nejvíce studovanou chorobou přímo související se syntézou železo-sírných center je neurodegenerativní onemocnění Friedrichova ataxie, které je spojeno s nedostatkem/poškozením funkce proteinu frataxinu (homolog Yfh1 u kvasinky). Tento nedostatek vede k přetížení mitochondrie železem, poškození mitochondriálních funkcí a oxidativnímu stresu (Vaubel & Isaya 2013). Dalšími projevy nedostatků v syntéze Fe-S center jsou např. sideroblastická anémie (kostní dřeň produkuje namísto zdravých erytrocytů

sideroblasty – nezralé červené krvinky se zvýšeným obsahem železa v důsledku jeho hromadění v mitochondrii) (Cavadini et al. 2007) a myopatie (svalová dystrofie) (Camaschella 2009).

Studie syntézy železo-sirných center v lidských buňkách se z výše uvedených důvodů zaměřují na frataxin. Ten se účastí ISC dráhy a interaguje s proteinovým lešením a chaperony (Shan, Napoli, & Cortopassi 2007). V lidských mitochondriích je přítomna ISC dráha. Homology IscS (Nfs1) a IscU (Isu1) se kupodivu podařilo nalézt jak v mitochondrii, tak v cytosolu (Tong and Rouault 2000). Lidské buňky obsahují také CIA dráhu a exportní aparát z mitochondrie. Homologem Atm1 přenašeče je zde ABCB7 (Cavadini et al. 2007), homologem proteinového lešení Nbp35 je Nubp1 (též známy jako huNbp35). NUBP1 je kromě syntézy center součástí metabolismu železa, čímž se liší od svého kvasinkového homologu (Cavadini et al. 2007).

4 Syntéza železo-sirných center u anaerobních protist

Naprostá většina eukaryotických buněk syntetizuje železo-sirná centra za využití ISC dráhy v mitochondrii, CIA dráhy v cytosolu a pokud je přítomen plastid, bývá v něm přítomna SUF dráha. Největší množství odchylek od tohoto schématu najdeme mezi jednobuněčnými anaerobními a mikroaerofilními eukaryoty (Ali & Nozaki 2013). Mitochondrie těchto organismů bývá zpravidla redukována na některou z forem MRO, jako je hydrogenosom nebo mitosom, či dokonce chybí úplně (Roger, Muñoz-Gómez, & Kamikawa 2017).

4.1 Metamonada

4.1.1 *Giardia intestinalis*

Giardia intestinalis je významným parazitem ze skupiny Diplomonadida (Archibald & Simpson). Parazituje na epitelu dvanáctníku a tenkého střeva obratlovců a způsobuje akutní průjemy (Adam 2001). *Giardia* obsahuje mitosom, což je velmi zjednodušená mitochondriální organela (MRO) bez vlastního genomu a její jedinou potvrzenou funkcí je syntéza železo-sirných center (Tovar et al. 2003). *Giardia* energeticky zcela závisí na procesech v cytosolu, glykolýze, fermentaci a katabolismu argininu (Schofield et al. 1992).

Syntéza železo-sirných center je v buňce giardie úzce spjatá s mitosomem, kde jsou lokalizované komponenty dráhy ISC (Tovar et al. 2003). Analýza proteomu mitosomu *G. intestinalis* přiblížila, které proteiny se u tohoto prvoka ISC dráhy účastní (Jedelský et al. 2011). Cystein desulfuráza IscS (GiiscS) získává síru pro syntézu [2Fe-2S] centra na proteinovém lešení IscU (GiiscU). V mitosomu jsou též přítomné některé komponenty „late

ISC“ (konkrétně Nfu a IscA) nebylo však potvrzeno, zda-li se účastní syntézy [4Fe-4S] center. Většina eukaryot obsahuje dva homology IscA, IscA1 (Isa1) a IscA2 (Isa2), giardie obsahuje pouze IscA2. Geny pro IscA proteiny v genomech většiny organismů s MRO chybí, jedná se nejspíše o sekundární ztrátu. U *G. intestinalis* byl IscA2 nejspíše zachován pro maturaci specifických [Fe-S] proteinů, nebo pro transport železa (Ding, Clark & Ding 2004; Jedelský et al. 2011).

Nalezeny byly též proteiny, které jsou spojovány s přenosem centra do apoproteinu, kromě Nfu jsou to monothiol glutaredoxin 5 (Grx5), chaperon Hsp70 a co-chaperony HscB a „nucleotide exchange factor“ GrpE (homolog Mge1) (Jedelský et al. 2011). Frataxin (FXN) je přítomný u naprosté většiny organismů s ISC dráhou, proto stojí za pozornost, že v genomu *G. intestinalis* a jejím mitosomálním proteomu frataxin chybí (Jedelský et al. 2011).

Dalšími proteiny, které se v modelových organismech [Fe-S] syntézy účastní, a které v mitosomech *G. intestinalis* chybí, jsou Ind1 a Iba57, které patří do pozdní ISC. Iba57 tvoří komplex s IscA proteinovým lešením a tvoří [4Fe-4S] centrum pro proteiny jako je např. akonitáza a „radical SAM“ Fe-S proteiny (Gelling et al. 2008). Ind1 je specifický pro maturaci komplexu I dýchacího řetězce (Bych et al. 2008). Ani jeden z těchto cílových proteinů není v mitosomu giardie přítomný, tudíž není zapotřebí ani Ind1 a Iba57 (Jedelský et al. 2011).

V cytosolu giardie se podařilo identifikovat pět z osmi proteinů CIA (Pyrih et al. 2016). Všude napříč eukaryoty závisí funkčnost CIA na funkčnosti ISC. Ke komunikaci mezi ISC v mitochondrii a CIA v cytosolu je v typické eukaryotické buňce využíván exportní aparát na vnitřní mitochondriální membráně a v mezimembránovém prostoru, jehož hlavní komponenty Amt1 a Erv1 *Giardia intestinalis* postrádá. Zároveň však vykazuje duální lokalizaci dvou proteinů CIA, Cia2 a Nbp35, jejichž asociace s mitosomem by mohla být využívána k podobnému účelu jako Amt1 a Erv1 (Pyrih et al. 2016). Vzhledem k tomu, že se jedná o zcela odlišné proteiny, než jsou Amt1 a Erv1, byl by v takovém případě nejspíše i mechanismus exportu odlišný od kvasinkového modelu.

Proteinové lešení Nbp35 zprostředkovává kompletaci [4Fe-4S] centra v cytosolu, ale Cfd1, který je s Nbp35 asociovaný u kvasinky, nebyl u giardie identifikován. CIA dráha *G. intestinalis* také postrádá elektron transportní řetězec asociovaný se syntézou centra na lešení (u kvasinky jsou to proteiny Tah18 a Dre2). Na základě konzervované strukturní domény Tah18 byly u *Giardia intestinalis* nalezeny dva domnělé ortology GiOR-1 a GiOR-2, jejich funkce je však zřejmě odlišná od funkce Tah18. Vložení centra do apoproteinu zprostředkovávají stejné proteiny jako u kvasinky, Nar1 a „CIA-targeting komplex“ Cia1-Cia2. Mms19, který je u kvasinky součástí „CIA-targeting komplexu“ zde chybí (Pyrih et al. 2016).

4.1.2 *Spironucleus salmonicida*

Spironucleus salmonicida je parazit lososovitých ryb příbuzný giardii. Narozdíl od *G. intestinalis* má tento prvok tzv. hydrogenosom, MRO bez vlastního genomu, která produkuje vodík. Analýza genomu *S. salmonicida* potvrdila přítomnost ISC dráhy, která je v hydrogenosomu lokalizována. Donorem síry pro proteinové lešení IscU je cystein desulfuráza IscS, přítomny jsou také dva ferredoxiny a frataxin (který u *G. intestinalis* chybí). Dalšími identifikovanými komponenty byly chaperony Hsp70, Jac1 a GrpE (Jerlström-Hultqvist et al. 2013).

4.1.3 *Spironucleus vortens*

Spironucleus vortens také obsahuje hydrogenosomy, imunofluorescenční analýza však odhalila lokalizaci dráhy ISC (jmenovitě Isu1 a frataxinu) v jiných menších organelách podobných mitosomům. *S. vortens* tedy nejspíše obsahuje jak hydrogenosomy, tak mitosomy. Syntéza železo-sírných center je zřejmě lokalizována v mitosomech (Millet et al. 2013).

4.1.4 *Kipferlia bialata*

Kipferlia bialata je volně žijící příbuzný spironuclea a giardie, který obsahuje MRO s bohatším proteomem než dva předchozí organismy. Předpokládá se, že společný předek spironuclea a giardie měl MRO podobnou kipferii a došlo u nich k její redukci. V MRO kipferlie jsou lokalizovány komponenty ISC dráhy, cystein desulfuráza IscS, lešení IscU, „A-type“ protein IscA, frataxin a chaperony Hsp70, HscB a GrpE (Tanifuji et al. 2018).

4.1.5 *Trichomonas vaginalis*

Trichomonas vaginalis je široce rozšířený parazitický prvok patřící do skupiny Parabasalia (Archibald & Simpson 2017). Napadá lidský urogenitální trakt a jím způsobená nemoc trichomonóza je nejrozšířenější nevírovou sexuálně přenosnou chorobou s prevalencí cca 180 milionů nakažených ročně (World Health Organization (2012), cit. dle Menezes, Frasson & Tasca 2016). *Trichomonas* má namísto klasických mitochondrií hydrogenosomy, které produkují ATP, oxid uhličitý, vodík a acetát z pyruvátu (Müller 1986, cit. dle Steinbüchel & Müller 1986).

Hydrogenosomy jsou také místem syntézy železo-sírných center pomocí dráhy ISC, jak bylo vůbec poprvé experimentálně ukázáno u *T. vaginalis* (Tachezy, Sánchez, and Müller 2001; Satak et al. 2004). V těchto studiích byly v genomu identifikovány dva homology cystein desulfurázy IscS, TviscS-1 a TviscS-2. TviscS-1 postrádá specifickou N-terminální sekvenci,

kteřá je typická pro směřování proteinů do hydrogenosomu *T. vaginalis*, a je celkově kratší (Tachezy, Sánchez, and Müller 2001). Při analýze proteomu hydrogenosomu *T. vaginalis* se navíc podařilo nalézt pouze jeden paralog IscS. Dále analýza odhalila další proteiny ISC, proteinové lešení IscU, A-type přenašeč IscA, ferredoxin Fdx, chaperon Hsc20 (HscB) a „nucleotide exchange factor“ GrpE (Mge1). Byly též nalezeny specifické maturázy hydrogenáz HydF a HydG, které se podílejí se na vkládání center do těchto proteinů (Schneider et al. 2011).

V rámci této analýzy se nepodařilo autorům identifikovat proteiny Isd11 a frataxin, oba tyto proteiny však byly v genomu *T. vaginalis* v minulosti úspěšně prokázány (Dolezal et al. 2007; Richards & van der Giezen 2006). Stejně jako u giardie, se nepodařilo identifikovat v proteomu ani v genomu *T. vaginalis* proteiny exportního mechanismu, Atm1 a Erv1 (Schneider et al. 2011; Carlton et al. 2007). Absence těchto komponentů však není překvapivá, Erv1 a Atm1 byly spolu s několika proteiny CIA dráhy ztraceny nejspíše už u předka všech metamonád (Pyrih et al. 2016).

V cytosolu *T. vaginalis* je přítomna dráha CIA. Syntéza cytosolických a jaderných železo-sirných center probíhá na proteinovém lešení Nbp35-Cfd1. Proteiny, které se účastní vložení centra do apoproteinu jsou u *T. vaginalis* Nar1 a dva komponenty „CIA targeting komplexu“ Cia1 a Cia2. Protein Mms19, který bývá u modelových organismů v komplexu s Cia1-Cia2, u *T. vaginalis* chybí a byl pravděpodobně také ztracen u všech metamonád. Pro syntézu centra na lešení bývá vyžadován elektron transportní řetězec Tah18-Dre2, Dre2 však u metamonád chybí. Při pokusu o identifikaci Tah18 u *T. vaginalis* byla hledána pro něj specifická CPR doména. Tato doména identifikována byla nalezena, ovšem pouze ve formě fúzního proteinu s hydrogenázou. Tah18 tedy zřejmě v buňce *T. vaginalis* chybí také (Pyrih et al. 2016).

4.1.6 *Monocercomonoides* sp.

Druh *Monocercomonoides* sp. je zvláštní případ ve světě anaerobních protist. Tato oxymonáda (Excavata, Preaxostyla) patřící do čeledi Polymastigidae (Archibald & Simpson 2017) je první eukaryotickou buňkou, u které byla potvrzena kompletní sekundární ztráta mitochondrie. U tohoto prvoka nebyla nalezena žádná z komponent ISC dráhy, syntézu železo-sirných center zde zprostředkovává dráha SUF získaná laterálním genovým přenosem od bakterie. K tomuto přenosu došlo s největší pravděpodobností již před ztrátou mitochondrie a nejspíše právě díky přítomnosti SUF se stala mitochondrie obsahující ISC redundantní a byla tak umožněna její ztráta (Karnkowska et al. 2016)

Monocercomonoides obsahuje tři geny pro proteiny SUF dráhy, SufB, SufC, a fúzní gen pro SufS a SufU. Cystein desulfuráza SufS bývá ve většině případů v komplexu s proteinem SufE, který zvyšuje aktivitu SufS. Roli SufE v buňce *Monocercomonoides* sp. nahrazuje SufU. Experimenty zahrnující expresi SUF proteinů v *Trichomonas vaginalis* a *Saccharomyces cerevisiae* naznačují, že SUF dráha *Monocercomonoides* sp. je lokalizována v cytosolu (Karnkowska et al. 2016).

Analýza genomu monocercomoniota odhalila přítomnost CIA dráhy. Podařilo se identifikovat Nbp35, Nar1, Cia1 a Cia2. Komponenty, které typicky chybí u anaerobních protist s MRO, Dre2 a Tah18, zde chybí také, stejně jako Cfd1 a MMS19. *Monocercomonoides* tedy kombinuje SUF a CIA dráhu, funkční propojení těchto drah však není jasné (Karnkowska et al. 2016).

4.1.7 *Paratrimastix pyriformis*

Blízkým příbuzným oxymonád je *Paratrimastix pyriformis*. Stejně jako *Monocercomonoides* sp. patří mezi Preaxostyla do sesterské skupiny oxymonád (Paratrimastigidae). *Paratrimastix* patří mezi volně žijící protista, obývá hypoxické sedimenty ve sladkých vodách (Archibald & Simpson 2017). MRO tohoto prvoka jsou dvoumembránové organely bez krist podobné hydrogenosomům, o jejichž vlastnostech se mnoho neví. Jedinou experimentálně dokázanou funkcí této organely je systém štěpení glycinu (GCS) (Zubáčová et al. 2013).

V transkriptomu paratrimastixe nebyla nalezena žádná z komponent ISC dráhy, stejně jako u *Monocercomonoides* sp. však byly identifikovány komponenty SUF. Tyto proteiny postrádají N-terminální sekvenci k transportu do MRO. Přítomnost SUF dráhy s pravděpodobnou lokalizací v cytosolu buňky a zároveň přítomnost MRO bez zjevné přítomnosti ISC dráhy podporuje hypotézu, že společný předek paratrimastixe a monocercomoniota získal SUF dráhu laterálním genovým přenosem od bakterie, a to ještě před ztrátou mitochondrie u monocercomoniota (Karnkowska et al. 2016). V MRO paratrimastixe jsou pravděpodobně lokalizovány tři hydrogenázy, které obsahují železo-sirná centra (Hampl et al. 2008). Jakým způsobem dochází k maturaci těchto proteinů není známo, přítomnost železo-sirných proteinů v MRO nekoresponduje s lokalizací biosyntetických drah pro syntézu železo-sirných center výhradně v cytosolu. Bude třeba dalšího výzkumu k objasnění tohoto fenoménu.

4.2 *Microsporidia*

Microsporidia je skupina obligátních intracelulárních parazitů napadající široké spektrum hostitelů od protist po obratlovce včetně člověka. Jedná se o sesterskou skupinu hub. Životní strategie mikrosporidií je pozoruhodná, spory invadují hostitelskou buňku a získávají veškeré metabolity z ní, s čímž souvisí značné zjednodušení buněčných struktur (Archibald & Simpson 2017). Mikrosporidie obsahují mitosomy (Williams et al. 2002).

Syntéza železo-sirných center u mikrosporidií byla zkoumána ve dvou organismech, *Encephalitozoon cuniculi* a *Trachipleistophora hominis* (Goldberg et al. 2008; Freibert et al. 2017). Genomy obou těchto organismů obsahují elementy ISC a CIA dráhy (Katinka et al. 2001). Studie syntézy Fe-S center prokázaly lokalizaci všech enzymů ISC dráhy v mitosomu u *E. cuniculi* (Goldberg et al. 2008; Freibert et al. 2017), u *T. hominis* se však výsledky těchto studií rozcházejí. Studie z roku 2008 (Goldberg et al. 2008) uvádí duální lokalizaci proteinového lešení IscU a frataxinu (Yfh1) s většinovou koncentrací v cytosolu. Autoři studie publikované v roce 2017 (Freibert et al. 2017) však tyto výsledky ověřovali za použití nových protilátek a oba tyto proteiny detekovali pouze v mitosomu.

U obou organismů, *E. cuniculi* i *T. hominis*, byla identifikována kompletní brzká ISC sloužící k syntéze [2Fe-2S] center. Tato část ISC dráhy se skládá z cystein desulfurázy Nfs1-Isd11, lešení Isu1, frataxinu (Yfh1) a proteinů elektron transportního řetězce - ferredoxinu (Yah1) a reduktázy Arh1. Vložení [2Fe-2S] center do proteinů zprostředkovává chaperonový systém, který zde představují Hsp70 chaperon Ssc1 a co-chaperon Jac1 spolu s Grx5. Proteiny pozdní pro syntézu [4Fe-4S] center, zejména komplex Isa1-Isa2-Iba57 nebyly nalezeny (Goldberg et al. 2008; Freibert et al. 2017). Freibert et al. provedli též funkční studii, ve které úspěšně rekonstruovali syntézu železo-sirných center *in vitro* za použití lidského frataxinu a purifikovaných proteinů ISC dráhy *T. hominis* (Freibert et al. 2017).

Pro kompletaci cytosolických a jaderných železo-sirných proteinů je v cytosolu mikrosporidií přítomna dráha CIA. Proteiny exportního aparátu ISC sloužící ke komunikaci s CIA nebyly uspokojivě prokázány. Při hledání homologu Atm1 byly nalezeny tři různé sekvence, ThAtm1_1, ThAtm1_2 a ThAtm1_3, ani jeden z transkriptů však při experimentech s Atm1-knockout kvasinkou nebyl schopen nahradit roli kvasinkového Atm1. Dráha CIA v cytosolu mikrosporidií obsahuje proteinové lešení pro tvorbu [4Fe-4S] centra Cfd1-Nbp35, elektron transportní řetězec Tah18-Dre2 a proteiny Nar1 a Cia1. Nepodařilo se nalézt žádný homolog Mms19, Yae1, ani Lto (Goldberg et al. 2008; Freibert et al. 2017).

4.3 Stramenopiles

4.3.1 *Blastocystis*

Blastocystis je patogen trávicího traktu lidí a zvířat (Tan 2004). Mitochondrie *Blastocystis* vykazuje jak znaky typické pro aerobní mitochondrii, tak charakteristické hydrogenosomální proteiny ([FeFe] hydrogenáza a ferredoxin oxidoreduktáza (PFO)). Mezi typicky mitochondriální vlastnosti tohoto MRO patří krysty a mitochondriální DNA. Nemá úplný dýchací řetězec, obsahuje komplexy I a II, ale chybí komplex III a IV a F_1F_0 ATPáza (Stechmann et al. 2008). V genomu *Blastocystis* byly nalezeny komponenty brzké ISC dráhy, cystein desulfuráza Nfs1, protein Isd11, frataxin (Yfh1), proteinové lešení Isu1, ferredoxin Yah1 a jeho reduktáza Arh1 (elektron transportní řetězec) a přenašeč glutaredoxin 5 (Grx5). Stejně tak byly nalezeny geny pro proteiny pozdní ISC, Isa1, Isa2 a Iba57 a ABC přenašeč Atm1 (Gentekaki et al. 2017). ISC dráha je lokalizovaná v MRO *Blastocystis*. V cytosolu je přítomna dráha CIA, nalezeny byly proteiny Nar1 a domnělý homolog Tah18 z elektron transportního řetězce, součást proteinového lešení Nbp35, a „CIA targeting komplex“ Cia1, Cia2 a MMS19 (Tsaousis et al. 2012).

Kromě proteinů drah ISC a CIA byl v cytosolu *Blastocystis* identifikován fúzní protein SufCB, součást SUF dráhy. Tento protein je spolu se SufCB z pygsuiy a stygielly fylogeneticky příbuzný SUF homologům z anaerobních termofilních archeí, konkrétně řádu *Methanomicrobiales*. Tato Archaea obývají stejné prostředí jako *Blastocystis* a předpokládá se, že předek *Blastocystis* získal SufCB laterálním genovým přenosem (LGT) od předků těchto organismů. Žádný další enzym SUF dráhy nebyl v buňce *Blastocystis* nalezen. Jedná se o první popsany případ SUF dráhy v eukaryotické buňce bez plastidu (Tsaousis et al. 2012). Funkce fúzního proteinu SufCB zatím nebyla objasněna. Vzhledem k tomu, že u *E. coli* je dráha SUF využívána zejména v podmínkách oxidativního stresu a SUF je všeobecně považována za lépe adaptovanou na tyto podmínky, jedna z možných hypotéz je, že i SufBC funguje jako doplněk k ISC za oxidativního stresu, například při přenosu parazita mezi hostiteli.

4.4 Jakobida

4.4.1 *Stygiella incarcerata*

Stygiella incarcerata je mořský anaerob obsahující zvláštní typ hydrogenosomu bez vlastního genomu. V tomto MRO je lokalizována dráha ISC. Mezi identifikované komponenty patří cystein desulfuráza IscS asociovaná s proteinem Isd11, proteinové lešení IscU,

ferredoxin (Yah1) a frataxin (Yfh1). Byly identifikovány též proteiny pozdní ISC, lešení Isa1, Isa2 a proteiny pro vložení centra do apoproteinu, Nfu1 a Ind1, který je specifický pro vložení center do komplexu I dýchacího řetězce. Proteiny CIA dráhy *S. incarcerated* nebyly zatím dostatečně zkoumány, genomová analýza odhalila přítomnost Cfd1, proteinového lešení CIA dráhy (Leger et al. 2016; Peña-Díaz & Lukeš 2018). Podobně jako u *Blastocystis* sp. byla v buňce stygielly nalezena část dráhy SUF, fúzní protein SufCB, který postrádá mitochondriální signální sekvenci a je nejspíše lokalizován v cytosolu (Leger et al. 2016).

4.5 Breviatea

4.5.1 *Pygsuia biforma*

Pygsuia je další volně žijící organismus obývající hypoxické mořské sedimenty (Hamann et al. 2016). Tento organismus obsahuje unikátní typ MRO na hranici mezi vodík produkující mitochondrií a hydrogenosomem. Tato organela má dvě membrány a vlastní mitochondriální genom. Obsahuje modifikovaný elektron transportní řetězec (Stairs et al. 2018), ale zároveň i hydrogenosomální dráhu pro tvorbu ATP. Na rozdíl od většiny organismů obsahuje buňka pygsuiy pouze jednu tuto organelu na buňku (Stairs et al. 2014).

Z mitochondrie pygsuiy vymizela většina systému ISC včetně exportního aparátu a byla nahrazena kompletní SUF drahou. Některé komponenty ISC dráhy z MRO dosud zcela nevymizely, mezi ně patří fúzní protein obsahující doménu podobnou IscS (fúzovanou s proteinem Thil, což je protein pro syntézu 4-thiouridinu), který postrádá mitochondriální signální sekvenci a nejspíše byl získán laterálním genovým přenosem. Kromě této domény nebyla v buňce identifikována žádná jiná cystein desulfuráza a je tedy možné, že se syntézy železo-sírných center účastní, je však třeba toto tvrzení experimentálně ověřit. Dále jsou v buňce přítomny proteiny Nfu a Ind1, oba tyto proteiny mitochondriální signální sekvenci (MTS) obsahují, a jsou tedy nejspíše lokalizované v MRO. V buňce chybí exportní aparát Atm1/Erv1 pro export faktoru X, a v cytosolu byly identifikovány proteiny CIA dráhy, lešení Nbp35-Cfd1, „CIA-targeting komplex“ Cia1-Cia2, protein Nar1 a Met18 (homolog Mms19) (Stairs et al. 2014).

Stejně jako *Blastocystis* sp. a *S. incarcerated* obsahuje *P. biforma* fúzovaný SufCB proteinový komplex. V buňce pygsuiy má tento protein dva homology, Pb-mSufCB, který obsahuje mitochondriální signální sekvenci a je lokalizován uvnitř MRO, a Pb-cSufCB, který tuto sekvenci postrádá a je lokalizován v cytosolu. Analýza těchto proteinů dokázala, že SufCB pygsuiy a *Blastocystis* byly buď získány LGT již u jejich společného předka, nebo u předka

jedné z nich a následně došlo k laterálnímu genovému přenosu mezi dvěma eukaryotickým liniemi. Přítomnost IscS, Nfu a Ind1 poukazuje na to, že u předka pygsuiy probíhala syntéza železo-sirných center systémem ISC. Většina organismů obsahující jak ISC, tak SUF (či NIF) dráhu, používá druhou zmíněnou SUF dráhu v případech nedostatku železa, či při oxidačním stresu, což nabízí hypotézu, že předek *P. biforma* byl těmto podmínkám vystavován často. Dráha SUF se pro něj tedy stala výchozí dráhou pro syntézu železo-sirných center (Stairs et al. 2014).

4.6 Amoebozoa (Archamoebae)

4.6.1 *Entamoeba histolytica*

Entamoeba histolytica je významný lidský parazit způsobující měňavkovou úplavici. Mitochondrie entaméby je redukována na mitosom (Mai et al. 1999; Tovar, Fischer&Clark 1999), v mitosomu byla nalezena dráha pro aktivaci sulfátu, proces, který u většiny eukaryot probíhá v cytoplasmě či plastidu, a je u entaméby považován za hlavní funkci této organely (Mi-ichi et al. 2009).

V buňce *E. histolytica* nebyla identifikována většina částí mitochondriální dráhy ISC (s výjimkou HscA, HscB, Fdx a IscS spolu s IscU, které byly zřejmě získány laterálně (Van Der Giezen, Cox, and Tovar 2004)), ani žádný z proteinů SUF. Mitochondriální dráha pro syntézu železo-sirných center je zde nahrazena prokaryotickou dráhou NIF, která byla nejspíše získána laterálním genovým přenosem. Cystein desulfuráza EhNifS a lešení EhNifU jsou u *E. histolytica* zřejmě schopny samostatné syntézy Fe-S center a vykazují blízkou příbuznost s ortology těchto proteinů z ϵ -proteobakterií. (Ali et al. 2004). Autoři se zcela neshodují na přesné lokalizaci NIF systému. Ali et al. předpokládali jeho umístění v cytosolu (Ali et al. 2004). S touto hypotézou se shodují experimentální výsledky Mi-ichi et al., kteří při analýze proteomu mitosomu entaméby proteiny NIF dráhy nenalezli (Mi-ichi et al. 2009). Studie z roku 2010 však uvádí duální lokalizaci EhNifS a EhNifU s většinovým umístěním v mitosomu (Maralikova et al. 2010). Doležal et al. uvádí ve výsledcích analýzy proteinového importu do mitosomu *E. histolytica* lokalizaci EhNifU a EhNifS v cytosolu a přiklání se k možnosti, že výsledky studie poukazující na duální lokalizaci NIF jsou chybné (Doležal et al. 2010).

Entamoeba obsahuje v cytosolu vedle NIF také cytosolickou CIA dráhu. Byly nalezeny geny, které kódují Cfd1, Nbp35 a Nar1, Dre2 a Cia1. Proteiny lešení Nbp35 a Cfd1 spolu prokazatelně tvoří stabilní komplex, Nar1 se nejspíše účastní vložení centra do apoproteinu. Jakým způsobem spolu NIF a CIA interagují zůstává nejasné (Anwar et al. 2014).

4.6.2 *Mastigamoeba balamuthi*

Mastigamoeba balamuthi je volně žijící améba příbuzná entamébě. Stejně jako u entaméby byla u *M. balamuthi* ISC dráha nahrazena NIF dráhou pocházející z ϵ -proteobakterie (Gill et al. 2007). *Mastigamoeba* obsahuje dva paralogy pro každý z proteinů NIF dráhy, z čehož vždy jeden (NifS-M a NifU-M) obsahuje N-terminální signální sekvenci k transportu do mitochondrie. Paralogy bez této sekvence (NifS-C a NifU-C) zůstávají lokalizované v cytosolu. Tyto lokalizace byly experimentálně potvrzeny imunofluorescencí i imunoblotem, *Mastigamoeba* má tedy dva nejspíše nezávislé NIF systémy v cytosolu a v MRO (Nývltová et al. 2013; Nývltová et al. 2015).

4.7 Rhizaria

4.7.1 *Mikrocytos mackini*

Mikrocytos mackini je intracelulární parazit ústřic. Dlouho se předpokládalo, že tento organismus neobsahuje žádnou mitochondriální organelu, bližší výzkum ukázal přítomnost čtyř genů pro mitochondriální proteiny, cystein desulfurázu IscS, lešení IscU, ferredoxin reduktázu FdxR a dvě kopie genu pro mitochondriální Hsp70 s N-terminální signální sekvencí pro transport do mitochondrie. Všechny tyto proteiny se nejspíše účastní syntézy železo-sirných center. Nepodařilo se nalézt žádné další typické mitochondriální proteiny (např. proteiny pro import). Tyto výsledky naznačují, že *M. mackini* obsahuje vysoce redukovanou MRO podobnou mitosomu (Burki et al. 2013).

4.7.2 *Brevimastigomonas motovehicularis*

MRO prvoka *Brevimastigomonas motovehicularis* má vlastnosti jak aerobních mitochondrií tak hydrogenosomů. Obsahuje hydrogenosomální dráhu produkující vodík a zároveň dýchací řetězec na vnitřní mitochondriální membráně. *B. motovehicularis* je nejspíše evolučně na počátku ztráty dýchacího řetězce a tedy adaptace na anaerobní prostředí, jelikož geny kódující podjednotky komplexů III, IV a V jsou degenerované, fragmentované, či chybí úplně. In silico predikce předpokládají bohatý proteom této organely včetně kompletní ISC dráhy obsahující cystein desulfurázu Nfs1, Isd11, proteinové lešení Isu1, frataxin Yfh1, ferredoxin Yah1, ferredoxin reduktázu Arh1, glutaredoxin Grx5 a proteiny pozdní ISC, Isa1, Isa2, Iba57, Nfu1, a přenašeč Atm1 (Gawryluk et al. 2016).

4.8 Ciliata

4.8.1 *Nyctotherus ovalis*

Nyctotherus ovalis je symbiont ze střeva švábů také obsahující vodík produkující mitochondrii na pomezí aerobní mitochondrie a hydrogenosomu. Tato organela obsahuje rudimentární genom, který mimo jiné kóduje komponenty mitochondriálního dýchacího řetězce (Boxma, de Graaf, and van der Staay 2005). O syntéze železo-sirných center u *N. ovalis* není známo mnoho informací, analýza mitochondriálního genomu odhalila pouze dva proteiny, které se mohou, ale nemusí syntézy účastnit. Jsou jimi [2Fe-2S] ferredoxin, který v modelových organismech funguje jako redukční faktor pro syntézu [Fe-S], účastní se však i dalších procesů. Druhý potenciální komponent biosyntetické dráhy pro syntézu železo-sirných center je chaperon Hsp70, který se v modelových organismech mimo syntézy [Fe-S] účastní mitochondriálního importu. Zůstává nezodpovězeno, zda-li MRO obsahuje klasické komponenty ISC, neexistuje však žádný přímý důkaz jejich přítomnosti (Graaf et al. 2011). Problematiku syntézy železo-sirných center u *N. ovalis* by mohl přiblížit další výzkum genomu a proteomu tohoto prvoka. Komponenty biosyntetických drah pro syntézu železo-sirných center budou nejspíše kódovány v jaderném genomu, otázkou zůstává, které enzymy se syntézy účastní a kde jsou lokalizovány.

5 Závěr

Syntéza železo-sirných center je esenciální proces pro všechny buňky. Probíhá v mitochondriích, cytosolu a plastidech pomocí složitých biosyntetických drah. Mitochondriální dráha ISC je spolu s cytosolickou CIA konzervována napříč eukaryoty, nejvíce odchylek od tohoto schématu však nalezneme u anaerobních protist. U většiny anaerobů došlo k sekundární ztrátě některých komponent těchto drah. U všech těchto organismů se ztratil alespoň jeden komponent exportního aparátu z mitochondrie, který zajišťuje komunikaci ISC a CIA, a to konkrétně protein Erv1. Ztráta druhého komponentu tohoto aparátu, proteinu Atm1, však také není vzácná, mimo jiné byl ztracen u předka všech metamonád.

Další protein, který podléhá ztrátě nejspíše u všech těchto organismů, je součást elektron transportního řetězce, který zásobuje elektrony proteinové lešení CIA dráhy. Tímto proteinem je Dre2. Druhý protein tohoto řetězce, Tah18, chybí také u velkého množství organismů, stejně jako u Atm1 došlo k jeho ztrátě nejspíše u předka všech metamonád. Absence elektron transportního řetězce může souviset s alternativním zdrojem elektronů. Dalším možným

vysvětlením je, že organismy s absencí tohoto elektron transportního řetězce syntetizují v CIA dráze železo-sírná centra z výchozích látek, které nevyžadují redukci.

V průběhu evoluce došlo u některých organismů k získání alternativních prokaryotických drah SUF a NIF laterálním genovým přenosem. Tyto dráhy mohou sloužit jako doplněk k ISC dráze v podmínkách oxidativního stresu či za nedostatku železa (SufCB u *blastocystis*, *stigyelly* a *pygsuiy*), či mohou zcela nahradit funkci ISC dráhy a vést k její ztrátě (NIF u *entamoeb*y a *mastigamoeb*y, SUF u *monocercomonoides* a *paratrimastix*). Nahrazení ISC dráhy dráhou alternativní, která je lokalizována v cytosolu, může vést až k úplné ztrátě mitochondrie, jak se zřejmě stalo u rodu *Monocercomonoides*. Funkční propojení CIA a těchto alternativních drah je zcela neprozkoumané. Vzhledem k tomu, že ani propojení CIA a ISC u modelových aerobních organismů není důkladně objasněné, mohlo by studium těchto odchylek odhalit některé obecně platné skutečnosti.

6 Seznam použité literatury

- *Adam, R D. 2001. "Biology of Giardia Lamblia." *Clinical Microbiology Reviews* 14 (3). American Society for Microbiology (ASM): 447–75. <https://doi.org/10.1128/CMR.14.3.447-475.2001>.
- Adinolfi, Salvatore, Clara Iannuzzi, Filippo Prisci, Chiara Pastore, Stefania Iametti, Stephen R Martin, Franco Bonomi, and Annalisa Pastore. 2009. "Bacterial Frataxin CyaY Is the Gatekeeper of Iron-Sulfur Cluster Formation Catalyzed by IscS." *Nature Structural & Molecular Biology* 16 (4): 390–96. <https://doi.org/10.1038/nsmb.1579>.
- Albrecht, Alexander G, Daili J A Netz, Marcus Miethke, Antonio J Pierik, Olaf Burghaus, Florian Peuckert, Roland Lill, and Mohamed A Marahiel. 2010. "SufU Is an Essential Iron-Sulfur Cluster Scaffold Protein in Bacillus Subtilis." *Journal of Bacteriology* 192 (6): 1643–51. <https://doi.org/10.1128/JB.01536-09>.
- *Ali, Vahab, and Tomoyoshi Nozaki. 2013. *Iron-Sulphur Clusters, Their Biosynthesis, and Biological Functions in Protozoan Parasites. Advances in Parasitology*. 1st ed. Vol. 83. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-407705-8.00001-X>.
- Ali, Vahab, Yasuo Shigeta, Umechiyo Tokumoto, Yasuhiro Takahashi, and Tomoyoshi Nozaki. 2004. "An Intestinal Parasitic Protist, Entamoeba Histolytica, Possesses a Non-Redundant Nitrogen Fixation-like System for Iron-Sulfur Cluster Assembly under Anaerobic Conditions." *Journal of Biological Chemistry* 279 (16): 16863–74. <https://doi.org/10.1074/jbc.M313314200>.
- Andreini, Claudia, Lucia Banci, and Antonio Rosato. 2016. "Exploiting Bacterial Operons To Illuminate Human Iron–Sulfur Proteins." *Journal of Proteome Research* 15 (4): 1308–22. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.6b00045>.
- Anwar, Shadab, Manas Ranjan Dikhit, Krishn Pratap Singh, Rajiv Kumar Kar, Amir Zaidi, Ganesh Chandra Sahoo, Awadh Kishore Roy, Tomoyoshi Nozaki, Pradeep Das, and Vahab Ali. 2014. "Interaction between Nbp35 and Cfd1 Proteins of Cytosolic Fe-S Cluster

Assembly Reveals a Stable Complex Formation in *Entamoeba Histolytica*.” *PLoS ONE* 9 (10): 12–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108971>.

*Archibald, John M, and Alastair G B Simpson. 2017 *Handbook of the Protists Second Edition*. 10.1007/978-3-319-28149-0

Boxma, Brigitte, Rob de Graaf, and Georg van der Staay. 2005. “An Anaerobic Mitochondrion.” *Nature* 434 (March). <https://doi.org/10.1038/nature03312.1>.

Brancaccio, Diego, Angelo Gallo, Maciej Mikolajczyk, Kairit Zovo, Peep Palumaa, Ettore Novellino, Mario Piccioli, Simone Ciofi-Baffoni, and Lucia Banci. 2014. “Formation of [4Fe-4S] Clusters in the Mitochondrial Iron–Sulfur Cluster Assembly Machinery.” *Journal of the American Chemical Society* 136 (46): 16240–50. <https://doi.org/10.1021/ja507822j>.

*Braymer, Joseph J., and Roland Lill. 2017. “Iron–sulfur Cluster Biogenesis and Trafficking in Mitochondria.” *Journal of Biological Chemistry* 292 (31): 12754–63. <https://doi.org/10.1074/jbc.R117.787101>.

Bridwell-Rabb, Jennifer, Nicholas G Fox, Chi-Lin Tsai, Andrew M Winn, and David P Barondeau. n.d. “Human Frataxin Activates Fe–S Cluster Biosynthesis by Facilitating Sulfur Transfer Chemistry.” Accessed May 8, 2018. <https://doi.org/10.1021/bi500532e>.

Burki, Fabien, Nicolas Corradi, Roberto Sierra, Jan Pawlowski, Gary R. Meyer, Cathryn L. Abbott, and Patrick J. Keeling. 2013. “Phylogenomics of the Intracellular Parasite *Mikrocytos Mackini* Reveals Evidence for a Mitosome in Rhizaria.” *Current Biology* 23 (16). Elsevier Ltd: 1541–47. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.06.033>.

Bych, Katrine, Stefan Kerscher, Daili J A Netz, Antonio J. Pierik, Klaus Zwicker, Martijn A. Huynen, Roland Lill, Ulrich Brandt, and Janneke Balk. 2008. “The Iron-Sulphur Protein Ind1 Is Required for Effective Complex I Assembly.” *EMBO Journal* 27 (12): 1736–46. <https://doi.org/10.1038/emboj.2008.98>.

*Camaschella, Clara. 2009. “Hereditary Sideroblastic Anemias: Pathophysiology, Diagnosis,

and Treatment.” *Seminars in Hematology* 46 (4). W.B. Saunders: 371–77.
<https://doi.org/10.1053/J.SEMINHEMATOL.2009.07.001>.

Carlton, Jane M, Robert P Hirt, Joana C Silva, Arthur L Delcher, Michael Schatz, Qi Zhao, Jennifer R Wortman, et al. 2007. “ Draft Genome Sequence of the Sexually Transmitted Pathogen *Trichomonas vaginalis*” 315 (5809): 207–12.

Cavadini, Patrizia, Giorgio Biasiotto, Maura Poli, Sonia Levi, Rosanna Verardi, Isabella Zanella, Manuela Derosas, Rosaria Ingrassia, Marcella Corrado, and Paolo Arosio. 2007. “RNA Silencing of the Mitochondrial ABCB7 Transporter in HeLa Cells Causes an Iron-Deficient Phenotype with Mitochondrial Iron Overload.” *Blood* 109 (8). American Society of Hematology: 3552–59. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-08-041632>.

Chandramouli, Kala, Mihaela-Carmen Unciuleac, Sunil Naik, Dennis R. Dean, Boi Hanh Huynh, and Michael K. Johnson. 2007. “Formation and Properties of [4Fe-4S] Clusters on the IscU Scaffold Protein †.” *Biochemistry* 46 (23): 6804–11.
<https://doi.org/10.1021/bi6026659>.

Ding, Huang, Robert J. Clark, and Baojin Ding. 2004. “IscA Mediates Iron Delivery for Assembly of Iron-Sulfur Clusters in IscU under the Limited Accessible Free Iron Conditions.” *Journal of Biological Chemistry* 279 (36): 37499–504.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M404533200>.

Ding, Huang, Karyn Harrison, and Jianxin Lu. 2005. “Thioredoxin Reductase System Mediates Iron Binding in IscA and Iron Delivery for the Iron-Sulfur Cluster Assembly in IscU.” *The Journal of Biological Chemistry* 280 (34): 30432–37.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M504638200>.

Dolezal, Pavel, Michael J Dagley, Maya Kono, Peter Wolyne, Vladimir A Liki, Jung Hock Foo, Miroslava Sedínová, et al. 2010. “The Essentials of Protein Import in the Degenerate Mitochondrion of *Entamoeba histolytica*.” <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000812>.

Dolezal, Pavel, Andrew Dancis, Emmanuel Lesuisse, Róbert Sutak, Ivan Hrdý, T. Martin Embley, and Jan Tachezy. 2007. “Frataxin, a Conserved Mitochondrial Protein, in the

- Hydrogenosome of *Trichomonas Vaginalis*.” *Eukaryotic Cell* 6 (8): 1431–38. <https://doi.org/10.1128/EC.00027-07>.
- Estellon, Johan, Sandrine Ollagnier De Choudens, Myriam Smadja, Marc Fontecave, and Yves Vandenbrouck. 2014. “An Integrative Computational Model for Large- Scale Identification of Metalloproteins in Microbial Genomes: A Focus on Iron–sulfur Cluster Proteins.” *Metallomics* 6 (6): 1913–30. <https://doi.org/10.1039/c4mt00156g>.
- Freibert, Sven A., Alina V. Goldberg, Christian Hacker, Sabine Molik, Paul Dean, Tom A. Williams, Sirintra Nakjang, et al. 2017. “Evolutionary Conservation and in Vitro Reconstitution of Microsporidian Iron-Sulfur Cluster Biosynthesis.” *Nature Communications* 8. Nature Publishing Group: 1–12. <https://doi.org/10.1038/ncomms13932>.
- Gawryluk, Ryan M.R., Ryoma Kamikawa, Courtney W. Stairs, Jeffrey D. Silberman, Matthew W. Brown, and Andrew J. Roger. 2016. “The Earliest Stages of Mitochondrial Adaptation to Low Oxygen Revealed in a Novel Rhizarian.” *Current Biology* 26 (20). Elsevier Ltd.: 2729–38. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.08.025>.
- Gelling, C., I. W. Dawes, N. Richhardt, R. Lill, and U. Muhlenhoff. 2008. “Mitochondrial Iba57p Is Required for Fe/S Cluster Formation on Aconitase and Activation of Radical SAM Enzymes.” *Molecular and Cellular Biology* 28 (5): 1851–61. <https://doi.org/10.1128/MCB.01963-07>.
- Gentekaki, Eleni, Bruce A. Curtis, Courtney W. Stairs, Vladimír Klimeš, Marek Eliáš, Dayana E. Salas-Leiva, Emily K. Herman, et al. 2017. “Extreme Genome Diversity in the Hyper-Prevalent Parasitic Eukaryote Blastocystis.” Edited by Joseph Heitman. *PLOS Biology* 15 (9). Public Library of Science: e2003769. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2003769>.
- Giezen, Mark Van Der, Siân Cox, and Jorge Tovar. 2004. “The Iron-Sulfur Cluster Assembly Genes IscS and IscU of *Entamoeba Histolytica* Were Acquired by Horizontal Gene Transfer.” *BMC Evolutionary Biology* 4: 1–9. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-4-7>.
- Gill, Erin E., Sara Diaz-Triviño, Maria José Barberà, Jeffrey D. Silberman, Alexandra

- Stechmann, Daniel Gaston, Ivica Tamas, and Andrew J. Roger. 2007. "Novel Mitochondrion-Related Organelles in the Anaerobic Amoeba *Mastigamoeba Balamuthi*." *Molecular Microbiology* 66 (6). Wiley/Blackwell (10.1111): 1306–20. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2007.05979.x>.
- Goldberg, Alina V., Sabine Molik, Anastasios D. Tsaousis, Karina Neumann, Grit Kuhnke, Frederic Delbac, Christian P. Vivares, Robert P. Hirt, Roland Lill, and T. Martin Embley. 2008. "Localization and Functionality of Microsporidian Iron-Sulphur Cluster Assembly Proteins." *Nature* 452 (7187): 624–28. <https://doi.org/10.1038/nature06606>.
- Graaf, Rob M De, Guenola Ricard, Theo A Van Alen, Isabel Duarte, Bas E Dutilh, Carola Burgdorf, Jan W P Kuiper, et al. 2011. "The Organellar Genome and Metabolic Potential of the Hydrogen-Producing Mitochondrion of *Nyctotherus Ovalis* Research Article" 28 (8): 2379–91. <https://doi.org/10.1093/molbev/msr059>.
- Hamann, Emmo, Harald Gruber-vodicka, Manuel Kleiner, and Jianwei Chen. 2016. "Europe PMC Funders Group Environmental Breviatea Harbor Mutualistic *Arcobacter* Epibionts" 534 (7606): 254–58. <https://doi.org/10.1038/nature18297.Environmental>.
- Hampl, Vladimir, Jeffrey D. Silberman, Alexandra Stechmann, Sara Diaz-Triviño, Patricia J. Johnson, and Andrew J. Roger. 2008. "Genetic Evidence for a Mitochondriate Ancestry in the 'Amitochondriate' Flagellate *Trimastix Pyriformis*." Edited by Rosemary Redfield. *PLoS ONE* 3 (1). Public Library of Science: e1383. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001383>.
- Heinz, Eva, Tom A Williams, Sirintra Nakjang, Christophe J Noë L, Daniel C Swan, Alina V Goldberg, Simon R Harris, et al. n.d. "The Genome of the Obligate Intracellular Parasite *Trachipleistophora Hominis*: New Insights into Microsporidian Genome Dynamics and Reductive Evolution." Accessed April 23, 2018. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002979>.
- Hoff, K G, J J Silberg, and L E Vickery. 2000. "Interaction of the Iron-Sulfur Cluster Assembly Protein IscU with the Hsc66/Hsc20 Molecular Chaperone System of *Escherichia Coli*." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97 (14):

7790–95. <https://doi.org/10.1073/pnas.130201997>.

Hoff, Kevin G., Jill R. Cupp-Vickery, and Larry E. Vickery. 2003. “Contributions of the LPPVK Motif of the Iron-Sulfur Template Protein IscU to Interactions with the Hsc66-Hsc20 Chaperone System.” *Journal of Biological Chemistry* 278 (39): 37582–89. <https://doi.org/10.1074/jbc.M305292200>.

Jacobson, M R, V L Cash, M C Weiss, N F Laird, W E Newton, and D R Dean. 1989. “Biochemical and Genetic Analysis of the NifUSVWZM Cluster from *Azotobacter Vinelandii*.” *Molecular & General Genetics: MGG* 219 (1–2): 49–57. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2615765>.

Jedelský, Petr L., Pavel Doležal, Petr Rada, Jan Pyrih, Ondřej Šmíd, Ivan Hrdý, Miroslava Šedinová, et al. 2011. “The Minimal Proteome in the Reduced Mitochondrion of the Parasitic Protist *Giardia Intestinalis*.” Edited by Bob Lightowlers. *PLoS ONE* 6 (2): e17285. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017285>.

Jerlström-Hultqvist, Jon, Elin Einarsson, Feifei Xu, Karin Hjort, Bo Ek, Daniel Steinhilber, Kjell Hultenby, Jonas Bergquist, Jan O. Andersson, and Staffan G. Svärd. 2013. “Hydrogenosomes in the Diplomonad *Spironucleus Salmonicida*.” *Nature Communications* 4: 1–9. <https://doi.org/10.1038/ncomms3493>.

Karnkowska, Anna, Vojtěch Vacek, Zuzana Zubáčová, Sebastian C. Treitli, Romana Petrželková, Laura Eme, Lukáš Novák, et al. 2016. “A Eukaryote without a Mitochondrial Organelle.” *Current Biology* 26 (10): 1274–84. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.03.053>.

Katinka, Michael D., Simone Duprat, Emmanuel Cornillot, Guy Méténier, Fabienne Thomarat, Gérard Prensier, Valérie Barbe, et al. 2001. “Genome Sequence and Gene Compaction of the Eukaryote Parasite *Encephalitozoon Cuniculi*.” *Nature* 414. <https://www.nature.com/articles/35106579.pdf>.

Kim, Jin Hae, Anna K Füzy, Marco Tonelli, Dennis T Ta, William M Westler, Larry E Vickery, and John L Markley. 2009. “Structure and Dynamics of the Iron-Sulfur Cluster Assembly Scaffold Protein IscU and Its Interaction with the Cochaperone HscB.”

Biochemistry 48 (26). NIH Public Access: 6062–71. <https://doi.org/10.1021/bi9002277>.

Kim, Kyoung-Dong, Woo-Hyun Chung, Hyo-Jin Kim, Kyung-Chang Lee, and Jung-Hye Roe. 2010. “Monothiol Glutaredoxin Grx5 Interacts with Fe–S Scaffold Proteins Isa1 and Isa2 and Supports Fe–S Assembly and DNA Integrity in Mitochondria of Fission Yeast.” *Biochemical and Biophysical Research Communications* 392 (3): 467–72. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.01.051>.

Kispal, G, P Csere, C Prohl, and R Lill. 1999. “The Mitochondrial Proteins Atm1p and Nfs1p Are Essential for Biogenesis of Cytosolic Fe/S Proteins.” *The EMBO Journal* 18 (14). EMBO Press: 3981–89. <https://doi.org/10.1093/emboj/18.14.3981>.

Kispal, Gyula, Peter Csere, Bernard Guiard, and Roland Lill. 1997. “The ABC Transporter Atm1p Is Required for Mitochondrial Iron Homeostasis.” *FEBS Letters* 418 (3). Wiley-Blackwell: 346–50. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(97\)01414-2](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(97)01414-2).

Lange, H, A Kaut, G Kispal, and R Lill. 2000. “A Mitochondrial Ferredoxin Is Essential for Biogenesis of Cellular Iron-Sulfur Proteins.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97 (3). National Academy of Sciences: 1050–55. <https://doi.org/10.1073/PNAS.97.3.1050>.

Layer, Gunhild, S. Aparna Gaddam, Carla N. Ayala-Castro, Sandrine Ollagnier-de Choudens, David Lascoux, Marc Fontecave, and F. Wayne Outten. 2007. “SufE Transfers Sulfur from SufS to SufB for Iron-Sulfur Cluster Assembly.” *Journal of Biological Chemistry* 282 (18): 13342–50. <https://doi.org/10.1074/jbc.M608555200>.

Leger, Michelle M., Laura Eme, Laura A. Hug, and Andrew J. Roger. 2016. “Novel Hydrogenosomes in the Microaerophilic Jakobid *Stygiella Incarcerata*.” *Molecular Biology and Evolution* 33 (9): 2318–36. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw103>.

*Lill, Roland, Rafal Dutkiewicz, Sven A. Freibert, Torsten Heidenreich, Judita Mascarenhas, Daili J. Netz, Viktoria D. Paul, et al. 2015. “The Role of Mitochondria and the CIA Machinery in the Maturation of Cytosolic and Nuclear Iron-Sulfur Proteins.” *European Journal of Cell Biology* 94 (7–9). Elsevier GmbH.: 280–91.

<https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2015.05.002>.

- Loiseau, Laurent, Catherine Gerez, Martijn Bekker, Sandrine Ollagnier-de Choudens, Béatrice Py, Yannis Sanakis, Joost Teixeira de Mattos, Marc Fontecave, and Frédéric Barras. 2007. “ErpA, an Iron Sulfur (Fe S) Protein of the A-Type Essential for Respiratory Metabolism in *Escherichia Coli*.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104 (34): 13626–31. <https://doi.org/10.1073/pnas.0705829104>.
- Loiseau, Laurent, Sandrine Ollagnier-de Choudens, David Lascoux, Eric Forest, Marc Fontecave, and Frédéric Barras. 2005. “Analysis of the Heteromeric CsdA-CsdE Cysteine Desulfurase, Assisting Fe-S Cluster Biogenesis in *Escherichia Coli*.” *Journal of Biological Chemistry* 280 (29): 26760–69. <https://doi.org/10.1074/jbc.M504067200>.
- Mai, Z, S Ghosh, M Frisardi, B Rosenthal, R Rogers, and J Samuelson. 1999. “Hsp60 Is Targeted to a Cryptic Mitochondrion-Derived Organelle ("Crypton") in the Microaerophilic Protozoan Parasite *Entamoeba Histolytica*.” *Molecular and Cellular Biology* 19 (3). American Society for Microbiology (ASM): 2198–2205. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10022906>.
- Malkin, Richard, and Jesse C. Rabinowitz. 1966. “The Reconstitution of Clostridial Ferredoxin.” *Biochemical and Biophysical Research Communications* 23 (6): 822–27. [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(66\)90561-4](https://doi.org/10.1016/0006-291X(66)90561-4).
- Maralikova, Barbora, Vahab Ali, Kumiko Nakada-Tsukui, Tomoyoshi Nozaki, Mark van der Giezen, Katrin Henze, and Jorge Tovar. 2010. “Bacterial-Type Oxygen Detoxification and Iron-Sulfur Cluster Assembly in Amoebal Relict Mitochondria.” *Cellular Microbiology* 12 (3): 331–42. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2009.01397.x>.
- *Menezes, Camila Braz, Amanda Piccoli Frasson, and Tiana Tasca. 2016. “Trichomoniasis – Are We Giving the Deserved Attention to the Most Common Non-Viral Sexually Transmitted Disease Worldwide?” 3 (9). <https://doi.org/10.15698/mic2016.09.526>.
- Mi-ichi, F., M. A. Yousuf, K. Nakada-Tsukui, and T. Nozaki. 2009. “Mitosomes in *Entamoeba Histolytica* Contain a Sulfate Activation Pathway.” *Proceedings of the National Academy*

of Sciences 106 (51): 21731–36. <https://doi.org/10.1073/pnas.0907106106>.

Millet, Coralie O.M., Catrin F. Williams, Anthony J. Hayes, Anthony C. Hann, Joanne Cable, and David Lloyd. 2013. “Mitochondria-Derived Organelles in the Diplomonad Fish Parasite *Spironucleus Vortens*.” *Experimental Parasitology* 135 (2). Elsevier Inc.: 2620–273. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2013.07.003>.

Mühlenhoff, Ulrich, Jana Gerber, Nadine Richhardt, and Roland Lill. 2003. “Components Involved in Assembly and Dislocation of Iron-Sulfur Clusters on the Scaffold Protein Isu1p.” *The EMBO Journal* 22 (18). European Molecular Biology Organization: 4815–25. <https://doi.org/10.1093/emboj/cdg446>.

Mühlenhoff, Ulrich, Nadine Richter, Ophry Pines, Antonio J. Pierik, and Roland Lill. 2011. “Specialized Function of Yeast Isa1 and Isa2 Proteins in the Maturation of Mitochondrial [4Fe-4S] Proteins.” *Journal of Biological Chemistry* 286 (48): 41205–16. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.296152>.

Nitschke, Wolfgang, and A. William Rutherford. 1991. “Photosynthetic Reaction Centres: Variations on a Common Structural Theme?” *Trends in Biochemical Sciences* 16 (January): 241–45. [https://doi.org/10.1016/0968-0004\(91\)90095-D](https://doi.org/10.1016/0968-0004(91)90095-D).

Nyvtova, E., R. Sutak, K. Harant, M. Sedinova, I. Hrdy, J. Paces, C. Vlcek, and J. Tachezy. 2013. “NIF-Type Iron-Sulfur Cluster Assembly System Is Duplicated and Distributed in the Mitochondria and Cytosol of *Mastigamoeba Balamuthi*.” *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110 (18): 7371–76. <https://doi.org/10.1073/pnas.1219590110>.

Nyvtová, Eva, Courtney W Stairs, Ivan Hrdý, Jakub Rídl, Jan Mach, Jan Pačes, Andrew J Roger, and Jan Tachezy. 2015. “Lateral Gene Transfer and Gene Duplication Played a Key Role in the Evolution of *Mastigamoeba Balamuthi* Hydrogenosomes.” *Molecular Biology and Evolution* 32 (4). Oxford University Press: 1039–55. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu408>.

Ollagnier-de-Choudens, S, T Mattioli, Y Takahashi, and M Fontecave. 2001. “Iron-Sulfur Cluster Assembly: Characterization of IscA and Evidence for a Specific and Functional

- Complex with Ferredoxin.” *The Journal of Biological Chemistry* 276 (25): 22604–7. <https://doi.org/10.1074/jbc.M102902200>.
- Olson, Jeffery N., § Agar, § and Michael K. Johnson, and ‡ Robert J. Maier*. 2000. “Characterization of the NifU and NifS Fe–S Cluster Formation Proteins Essential for Viability in *Helicobacter Pylori*†.” American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/BI001744S>.
- Outten, F. Wayne, Matthew J. Wood, F. Michael Muñoz, and Gisela Storz. 2003. “The SufE Protein and the SufBCD Complex Enhance SufS Cysteine Desulfurase Activity as Part of a Sulfur Transfer Pathway for Fe-S Cluster Assembly in *Escherichia Coli*.” *Journal of Biological Chemistry* 278 (46): 45713–19. <https://doi.org/10.1074/jbc.M308004200>.
- Pandey, Alok, Donna M Gordon, Jayashree Pain, Timothy L Stemmler, Andrew Dancis, and Debkumar Pain. 2013. “Frataxin Directly Stimulates Mitochondrial Cysteine Desulfurase by Exposing Substrate-Binding Sites, and a Mutant Fe-S Cluster Scaffold Protein with Frataxin-Bypassing Ability Acts Similarly ” <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.525857>.
- Parent, Aubérie, Xavier Elduque, David Cornu, Laura Belot, Jean-Pierre Le Caer, Anna Grandas, Michel B Toledano, and Benoit D ’autréaux. 2015. “ARTICLE Mammalian Frataxin Directly Enhances Sulfur Transfer of NFS1 Persulfide to Both ISCU and Free Thiols.” *Nature Communications* 6. <https://doi.org/10.1038/ncomms6686>.
- Pastore, Chiara, Marisa Franzese, Filomena Sica, Pierandrea Temussi, and Annalisa Pastore. 2007. “Understanding the Binding Properties of an Unusual Metal-Binding Protein - A Study of Bacterial Frataxin.” *FEBS Journal* 274 (16): 4199–4210. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2007.05946.x>.
- Paul, Viktoria Désirée, Ulrich Mühlenhoff, Martin Stümpfig, Jan Seebacher, Karl G Kugler, Christian Renicke, Christof Taxis, Anne-Claude Gavin, Antonio J Pierik, and Roland Lill. 2015. “The Deca-GX3 Proteins Yae1-Lto1 Function as Adaptors Recruiting the ABC Protein Rli1 for Iron-Sulfur Cluster Insertion.” *ELife* 4 (July). eLife Sciences Publications Limited: e08231. <https://doi.org/10.7554/eLife.08231>.

Peña-Díaz, Priscila, and Julius Lukeš. 2018. "Fe–S Cluster Assembly in the Supergroup Excavata." *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, April. Springer Berlin Heidelberg, 1–21. <https://doi.org/10.1007/s00775-018-1556-6>.

Pondarré, Corinne, Brendan B. Antiochos, Dean R. Campagna, Stephen L. Clarke, Eric L. Greer, Kathryn M. Deck, Alice McDonald, et al. 2006. "The Mitochondrial ATP-Binding Cassette Transporter Abcb7 Is Essential in Mice and Participates in Cytosolic Iron–sulfur Cluster Biogenesis." *Human Molecular Genetics* 15 (6). Oxford University Press: 953–64. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddl012>.

*Py, Béatrice, and Frédéric Barras. 2010. "Building Fe–S Proteins: Bacterial Strategies." *Nature Reviews Microbiology* 8 (6). Nature Publishing Group: 436–46. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2356>.

Pyrih, Jan, Eva Pyrihová, Martin Kolísko, Darja Stojanovová, Somsuvro Basu, Karel Harant, Alexander C. Haindrich, et al. 2016. "Minimal Cytosolic Iron-Sulfur Cluster Assembly Machinery of *Giardia Intestinalis* Is Partially Associated with Mitosomes." *Molecular Microbiology* 102 (4): 701–14. <https://doi.org/10.1111/mmi.13487>.

Richards, Thomas A., and Mark van der Giezen. 2006a. "Evolution of the Isd11–IscS Complex Reveals a Single α -Proteobacterial Endosymbiosis for All Eukaryotes." *Molecular Biology and Evolution* 23 (7). Oxford University Press: 1341–44. <https://doi.org/10.1093/molbev/msl001>.

2006b. "Evolution of the Isd11–IscS Complex Reveals a Single α -Proteobacterial Endosymbiosis for All Eukaryotes." *Molecular Biology and Evolution* 23 (7): 1341–44. <https://doi.org/10.1093/molbev/msl001>.

*Roche, Béatrice, Laurent Aussel, Benjamin Ezraty, Pierre Mandin, Béatrice Py, and Frédéric Barras. 2013. "Reprint of: Iron/Sulfur Proteins Biogenesis in Prokaryotes: Formation, Regulation and Diversity." *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics* 1827 (8–9). Elsevier B.V.: 923–37. <https://doi.org/10.1016/j.bbabo.2013.05.001>.

- *Roger, Andrew J., Sergio A. Muñoz-Gómez, and Ryoma Kamikawa. 2017. “The Origin and Diversification of Mitochondria.” *Current Biology* 27 (21): R1177–92. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.09.015>.
- Roy, Amit, Natalia Solodovnikova, Tracy Nicholson, William Antholine, and William E Walden. 2003. “A Novel Eukaryotic Factor for Cytosolic Fe-S Cluster Assembly.” *The EMBO Journal* 22 (18). EMBO Press: 4826–35. <https://doi.org/10.1093/emboj/cdg455>.
- Sagan, L. 1967. “On the Origin of Mitosing Cells.” *Journal of Theoretical Biology* 14 (3): 255–74. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11541392>.
- Saini, Avneesh, Daphne T Mapolelo, Harsimranjit K Chahal, Michael K Johnson, and F Wayne Outten. n.d. “SufD and SufC ATPase Activity Are Required for Iron Acquisition during in Vivo Fe-S Cluster Formation on SufB.” Accessed May 8, 2018. <https://doi.org/10.1021/bi1011546>.
- Schneider, Rachel E, Mark T Brown, April M Shiflett, Sabrina D Dyll, Richard D Hayes, Yongming Xie, Joseph A Loo, and Patricia J Johnson. 2011. “The Trichomonas Vaginalis Hydrogenosome Proteome Is Highly Reduced Relative to Mitochondria, yet Complex Compared with Mitosomes.” *International Journal for Parasitology* 41 (13–14). NIH Public Access: 1421–34. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2011.10.001>.
- Schofield, Philip J., Michael R. Edwards, Jacqueline Matthews, and Justine R. Wilson. 1992. “The Pathway of Arginine Catabolism in Giardia Intestinalis.” *Molecular and Biochemical Parasitology* 51 (1). Elsevier: 29–36. [https://doi.org/10.1016/0166-6851\(92\)90197-R](https://doi.org/10.1016/0166-6851(92)90197-R).
- Schwartz, C J, O Djaman, J A Imlay, and P J Kiley. 2000. “The Cysteine Desulfurase, IscS, Has a Major Role in in Vivo Fe-S Cluster Formation in Escherichia Coli.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97 (16). National Academy of Sciences: 9009–14. <https://doi.org/10.1073/pnas.160261497>.
- Shan, Yuxi, Eleonora Napoli, and Gino Cortopassi. 2007. “Mitochondrial Frataxin Interacts with ISD11 of the NFS1/ISCU Complex and Multiple Mitochondrial Chaperones.” *Human Molecular Genetics* 16 (8): 929–41. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddm038>.

- Sheftel, Alex D, Oliver Stehling, Antonio J Pierik, Hans-Peter Elsässer, Ulrich Mühlenhoff, Holger Weibert, Anna Hobler, Frank Hannemann, Rita Bernhardt, and Roland Lill. 2010. “Humans Possess Two Mitochondrial Ferredoxins, Fdx1 and Fdx2, with Distinct Roles in Steroidogenesis, Heme, and Fe/S Cluster Biosynthesis.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107 (26). National Academy of Sciences: 11775–80. <https://doi.org/10.1073/pnas.1004250107>.
- Shi, Rong, Ariane Proteau, Magda Villarroja, Ismaïl Moukadiri, Linhua Zhang, Jean-François Trempe, Allan Matte, M Eugenia Armengod, and Miroslaw Cygler. 2010. “Structural Basis for Fe-S Cluster Assembly and TRNA Thiolation Mediated by IscS Protein-Protein Interactions.” *PLoS Biology* 8 (4). Public Library of Science: e1000354. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000354>.
- Shi, Yanbo, Manik Ghosh, Gennadiy Kovtunovych, Daniel R. Crooks, and Tracey A. Rouault. 2012. “Both Human Ferredoxins 1 and 2 and Ferredoxin Reductase Are Important for Iron-Sulfur Cluster Biogenesis.” *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* 1823 (2). Elsevier: 484–92. <https://doi.org/10.1016/J.BBAMCR.2011.11.002>.
- Silberg, Jonathan J, Tim L Tapley, Kevin G Hoff, and Larry E Vickery. 2004. “Regulation of the HscA ATPase Reaction Cycle by the Co-Chaperone HscB and the Iron-Sulfur Cluster Assembly Protein IscU.” *The Journal of Biological Chemistry* 279 (52): 53924–31. <https://doi.org/10.1074/jbc.M410117200>.
- Stairs, Courtney W., Laura Eme, Matthew W. Brown, Cornelis Mutsaers, Edward Susko, Graham Dellaire, Darren M. Soanes, Mark Van Der Giezen, and Andrew J. Roger. 2014. “A SUF Fe-S Cluster Biogenesis System in the Mitochondrion-Related Organelles of the Anaerobic Protist *Pygmaea*.” *Current Biology* 24 (11). Elsevier Ltd: 1176–86. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.04.033>.
- Stairs, Courtney W, Laura Eme, Sergio Muñoz-Gómez, Alejandro Cohen, Graham Dellaire, Jennifer N Shepherd, James P Fawcett, and Andrew J Roger. 2018. “Microbial Eukaryotes Have Adapted to Hypoxia by Horizontal Acquisitions of a Gene Involved in Rhodoquinone Biosynthesis.” *ELife* 7 (April). eLife Sciences Publications Limited:

e34292. <https://doi.org/10.7554/eLife.34292>.

- Stechmann, Alexandra, Karleigh Hamblin, Vicente Pérez-Brocal, Daniel Gaston, Gregory S S. Richmond, Mark van der Giezen, C. Graham Clark, and Andrew J. Roger. 2008. "Organelles in Blastocystis That Blur the Distinction between Mitochondria and Hydrogenosomes." *Current Biology* 18 (8): 580–85. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.03.037>.
- Steinbüchel, Alexander, and Miklós Müller. 1986. "Anaerobic Pyruvate Metabolism of Tritrichomonas Foetus and Trichomonas Vaginalis Hydrogenosomes." *Molecular and Biochemical Parasitology* 20 (1). Elsevier: 57–65. [https://doi.org/10.1016/0166-6851\(86\)90142-8](https://doi.org/10.1016/0166-6851(86)90142-8).
- Stemmler, Timothy L., Emmanuel Lesuisse, Debkumar Pain, and Andrew Dancis. 2010. "Frataxin and Mitochondrial FeS Cluster Biogenesis." *Journal of Biological Chemistry* 285 (35): 26737–43. <https://doi.org/10.1074/jbc.R110.118679>.
- Sutak, R., P. Dolezal, H. L. Fiumera, I. Hrdy, A. Dancis, M. Delgadillo-Correa, P. J. Johnson, M. Muller, and J. Tachezy. 2004. "Mitochondrial-Type Assembly of FeS Centers in the Hydrogenosomes of the Amitochondriate Eukaryote Trichomonas Vaginalis." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101 (28): 10368–73. <https://doi.org/10.1073/pnas.0401319101>.
- Tachezy, Jan, Lidya B. Sánchez, and Miklós Müller. 2001. "Mitochondrial Type Iron-Sulfur Cluster Assembly in the Amitochondriate Eukaryotes Trichomonas Vaginalis and Giardia Intestinalis, as Indicated by the Phylogeny of IscS." *Molecular Biology and Evolution* 18 (10). Oxford University Press: 1919–28. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a003732>.
- Tachezy, Jan, and Ondřej Šmíd. 2007. "Mitosomes in Parasitic Protists." In *Hydrogenosomes and Mitosomes: Mitochondria of Anaerobic Eukaryotes*, 201–30. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/7171_2007_113.
- Takahashi, Yasuhiro, and Umechiyo Tokumoto. 2002. "A Third Bacterial System for the

- Assembly of Iron-Sulfur Clusters with Homologs in Archaea and Plastids.” *The Journal of Biological Chemistry* 277 (32). American Society for Biochemistry and Molecular Biology: 28380–83. <https://doi.org/10.1074/jbc.C200365200>.
- Tan, Kevin S.W. 2004. “Blastocystis in Humans and Animals: New Insights Using Modern Methodologies.” *Veterinary Parasitology* 126 (1–2). Elsevier: 121–44. <https://doi.org/10.1016/J.VETPAR.2004.09.017>.
- Tanifuji, Goro, Shun Takabayashi, Keitaro Kume, Mizue Takagi, Takuro Nakayama, Ryoma Kamikawa, Yuji Inagaki, and Tetsuo Hashimoto. 2018. “The Draft Genome of *Kipferlia Bialata* Reveals Reductive Genome Evolution in Fornicate Parasites.” *PLoS ONE* 13 (3): 1–18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194487>.
- Tong, W H, and T Rouault. 2000. “Distinct Iron-Sulfur Cluster Assembly Complexes Exist in the Cytosol and Mitochondria of Human Cells.” *The EMBO Journal* 19 (21): 5692–5700. <https://doi.org/10.1093/emboj/19.21.5692>.
- Tovar, Jorge, Anke Fischer, and C. Graham Clark. 1999. “The Mitosome, a Novel Organelle Related to Mitochondria in the Amitochondrial Parasite *Entamoeba Histolytica*.” *Molecular Microbiology* 32 (5). Wiley/Blackwell (10.1111): 1013–21. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1999.01414.x>.
- Tovar, Jorge, Gloria Léon-Avila, Lidya B. Sánchez, Róbert Sutak, Jan Tachezy, Mark van der Giezen, Manuel Hernández, Miklós Muller, and John M. Lucocq. 2003. “Nature (03) Mitochondrial Remnant Organelles of *Giardia* Function in Iron-Sulphur Protein Maturation” 426 (November): 5.
- Trotter, Valentine, Daniel Vinella, Laurent Loiseau, Sandrine Ollagnier de Choudens, Marc Fontecave, and Frédéric Barras. 2009. “The CsdA Cysteine Desulphurase Promotes Fe/S Biogenesis by Recruiting Suf Components and Participates to a New Sulphur Transfer Pathway by Recruiting CsdL (Ex-YgdL), a Ubiquitin-Modifying-like Protein.” *Molecular Microbiology* 74 (6): 1527–42. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20054882>.
- Tsaousis, A. D., S. Ollagnier de Choudens, E. Gentekaki, S. Long, D. Gaston, A. Stechmann,

- D. Vinella, et al. 2012. “Evolution of Fe/S Cluster Biogenesis in the Anaerobic Parasite *Blastocystis*.” *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109 (26): 10426–31. <https://doi.org/10.1073/pnas.1116067109>.
- Urbina, H D, J J Silberg, K G Hoff, and L E Vickery. 2001. “Transfer of Sulfur from IscS to IscU during Fe/S Cluster Assembly.” *The Journal of Biological Chemistry* 276 (48): 44521–26. <https://doi.org/10.1074/jbc.M106907200>.
- *Vaubel, Rachael A, and Grazia Isaya. 2013. “Iron-Sulfur Cluster Synthesis, Iron Homeostasis and Oxidative Stress in Friedreich Ataxia.” *Molecular and Cellular Neurosciences* 55 (July). NIH Public Access: 50–61. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2012.08.003>.
- Vinella, Daniel, Céline Brochier-Armanet, Laurent Loiseau, Emmanuel Talla, and Frédéric Barras. 2009. “Iron-Sulfur (Fe/S) Protein Biogenesis: Phylogenomic and Genetic Studies of A-Type Carriers.” Edited by William F. Burkholder. *PLoS Genetics* 5 (5): e1000497. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000497>.
- Vranken, Jonathan G Van, Mi-Young Jeong, Peng Wei, Yu-Chan Chen, Steven P Gygi, Dennis R Winge, and Jared Rutter. 2016. “The Mitochondrial Acyl Carrier Protein (ACP) Coordinates Mitochondrial Fatty Acid Synthesis with Iron Sulfur Cluster Biogenesis.” <https://doi.org/10.7554/eLife.17828.001>.
- Williams, Bryony A. P., Robert P. Hirt, John M. Lucocq, and T. Martin Embley. 2002. “A Mitochondrial Remnant in the Microsporidian *Trachipleistophora Hominis*.” *Nature* 418 (6900). Nature Publishing Group: 865–69. <https://doi.org/10.1038/nature00949>.
- Wollers, Silke, Gunhild Layer, Ricardo Garcia-Serres, Luca Signor, Martin Clemancey, Jean-Marc Latour, Marc Fontecave, and Sandrine Ollagnier de Choudens. 2010. “Iron-Sulfur (Fe-S) Cluster Assembly: The SufBCD Complex Is a New Type of Fe-S Scaffold with a Flavin Redox Cofactor.” *The Journal of Biological Chemistry* 285 (30): 23331–41. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.127449>.
- *Xu, Xiang Ming, and Simon Geir Møller. 2011. “Iron–Sulfur Clusters: Biogenesis, Molecular Mechanisms, and Their Functional Significance.” *Antioxidants & Redox Signaling* 15 (1).

Mary Ann Liebert, Inc. 140 Huguenot Street, 3rd Floor New Rochelle, NY 10801 USA: 271–307. <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3259>.

Yan, Robert, Salvatore Adinolfi, and Annalisa Pastore. 2015. “Ferredoxin, in Conjunction with NADPH and Ferredoxin-NADP Reductase, Transfers Electrons to the IscS/IscU Complex to Promote Iron-Sulfur Cluster Assembly.” *Biochimica et Biophysica Acta* 1854 (9). Elsevier: 1113–17. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2015.02.002>.

Yuvaniyama, P, J N Agar, V L Cash, M K Johnson, and D R Dean. 2000. “NifS-Directed Assembly of a Transient [2Fe-2S] Cluster within the NifU Protein.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97 (2): 599–604. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10639125>.

Zheng, L, R H White, V L Cash, R F Jack, and D R Dean. 1993. “Cysteine Desulfurase Activity Indicates a Role for NIFS in Metallocluster Biosynthesis.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90 (7). National Academy of Sciences: 2754–58. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8464885>.

Zubáčová, Zuzana, Lukáš Novák, Jitka Bublíková, Vojtěch Vacek, Jan Fousek, Jakub Rídl, Jan Tachezy, Pavel Doležal, Čestmír Vlček, and Vladimír Hampl. 2013. “The Mitochondrion-Like Organelle of *Trimastix Pyriiformis* Contains the Complete Glycine Cleavage System.” *PLoS ONE* 8 (3). Public Library of Science: e55417. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055417>.